

الجمهورية العربية السورية
جـامعـــة البعـــث
كليـــة الطـــب البيطـــري
قســـم الأحيـاء الدقيـقة

التقصي الوبائي عن التهاب الضرع المعدي المسبب بالمفطورات(المايكوبلازما) وغيرها عند قطعان الأغنام في المنطقة الوسطى

رســـالــــــــــة مقدمــــــــــة من

الطبيـــــــب البيـــــطري حميد على ناجي الرفاعي
دبلوم الدراسات العليا في التحليل والتشخيص المخبري

لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية باختصاص الأحياء الدقيقة

تحت إشــــــــراف

الدكتور سامر كامل إبراهيم
أستـــاذ مساعد في قسم الأحياء الدقيقة
كليــة الطــب البيطـري ـ جــامعـــة البعــث

2010

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

❊ شهادة ❊

أشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة هو نتيجة بحث قام به المرشح الطالب حميد على ناجي الرفاعي تحت إشراف الدكتور سامر كامل إبراهيم الأستاذ المساعد في قسم الأحياء الدقيقة في كلية الطب البيطري في جامعة البعث وأي رجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع موثق في النص .

المرشـــــح — المشـــــرف العلمـــــــــــي

حميد الرفاعي — أ. م .د. سامر إبراهيم

حرر في / /

❊ *Certificate* ❊

It is hereby certified that the work described in this thesis is the result of the author ́s own investigation Dr. Hamid Al refaie under the supervision of the professor assistance Dr.Samer Ibrahim in the department of Microbiology at the faculty of veterinary medicine , Albaath University . And any reference to other researcher work has been acknowledged in the paragraphs .

*Date \ *

Candidate — *Supervisors*

Hamid Alrefaie — *Prof.assistance. Dr. Samer Ibrahim*

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

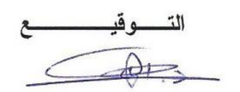
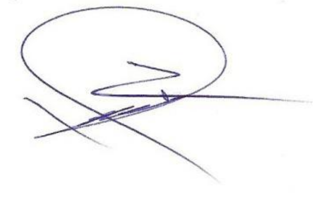
قرار لجنة الحكم والمناقشة

استناداً إلى قرار مجلس البحث العلمي والدراسات العليا بجامعة البعث رقم (٢٠٦) المتخذ بالجلسة رقم (٨) للعام الدراسي ٢٠٠٩ – ٢٠١٠ المنعقدة بتاريخ ٢١ محرم ١٤٣١ هـ والموافق ٦/١/ ٢٠١٠ القاضي بتشكيل لجنة الحكم والمناقشة لرسالة الماجستير للطالب حميد علي ناجي الرفاعي بعنوان :

" التقصي الوبائي عن التهاب الضرع المعدي المسبب بالمفطورات (الميكوبلازما) وغيرها عند قطعان الأغنام في المنطقة الوسطى "

وبعد عرض الرسالة وسردها ومناقشتها، اجتمعت لجنة الحكم والمناقشة بتاريخ ٤ / ٣ / ٢٠١٠ وبعد المداولة قررت اللجنة ترشيح طالب الدراسات العليا حميد علي ناجي الرفاعي لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية اختصاص (الأحياء الدقيقة) بتقدير عام (امتياز) وبدرجة (٨٩).

وتوصي اللجنة بصرف تكاليف طباعة الأطروحة على نفقة الجامعة نظراً للجهد الذي بذله الطالب والتكاليف التي تكبدها إضافة إلى تناوله موضوعاً حساساً من الناحية الاقتصادية في القطر.

أعضاء اللجنة :	التوقيع
أ. م. د. إبراهيم الرفاعي اختصاص أحياء دقيقة " فطور " كلية الطب البيطري – جامعة البعث	
أ. م. د. ياسر العمر اختصاص الوبائيات كلية الطب البيطري – جامعة البعث	
أ. م. د. سامر إبراهيم اختصاص الأحياء الدقيقة كلية الطب البيطري – جامعة البعث	

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الأستاذ الدكتور عميد كلية الطب البيطري

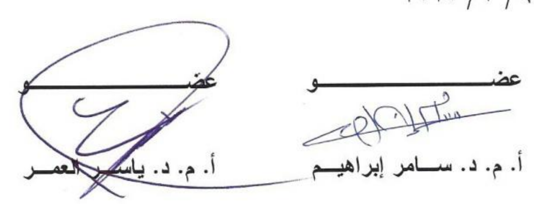
بعد الإطلاع على الأطروحة المعدلة من رسالة الماجستير المقدمة من قبل المرشح لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية طالب الدراسات العليا حميد علي ناجي الرفاعي في قسم الأحياء الدقيقة اختصاص (الأحياء الدقيقة) بعنوان :

" التقصي الوبائي عن التهاب الضرع المعدي المسبب بالمفطورات (الميكوبلازما) وغيرها عند قطعان الأغنام في المنطقة الوسطى "

نفيدكم بأن الأطروحة بشكلها الحالي قد استوفت التعديلات التي أشارت لها لجنة الحكم والمناقشة التي عقدت يوم الخميس بتاريخ ٤ / ٣ / ٢٠١٠ لمناقشة الرسالة، ونعتبر أن الرسالة بهذه الصورة جاهزة للطباعة بشكلها النهائي.

يرجى التكرم بالإطلاع

٢٠١٠ / ٣ / ٢٩



عضو	عضو	رئيس اللجنة
أ. م. د. سامر إبراهيم	أ. م. د. ياسر العمر	أ. م. د. إبراهيم الرفاعي

رئيس قسم الأحياء الدقيقة

أ. م. د. سامر إبراهيم



مصدق

عميد كلية الطب البيطري

أ. د. عبد الكريم قلب اللوز

٢٣ آذار ٢٠١٠

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

بسْمِ اللهِ الرَّحْمنِ الرَّحيمِ

{وَقُلِ اعْمَلُواْ فَسَيَرَى اللّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ
وَسَتُرَدُّونَ إِلَى عَالِمِ الْغَيْبِ وَالشَّهَادَةِ فَيُنَبِّئُكُم بِمَا
كُنتُمْ تَعْمَلُونَ} التوبة105

صدق الله العظيم

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الإهداء

- إلى المعلم الأول إلى نبي الرحمة إلى الحبيب المصطفى صلى الله عليه وسلم
- إلى روح والدي ووالدتي رحمهما الله
- إلى الأخوة والأخوات الأحبة ممن غمروني بالحب والعطاء
- إلى الأصدقاء الصادقين ممن عايشوا جهدنا وفرحنا و ألمنا
- إلى من شاركتني غربة الأيام و آلامها لحظة بلحظة إلى زوجتي الغالية أم أنس
- الى زهرة فؤادي وفلذة كبدي أنس

أهدي هذا العمل المتواضع

حميد الرفاعي

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

شكر وتقدير

- الشكر والتقدير الخالصين إلى الأستاذ الإنسان رمز الرقي والتواضع والعطاء والذي أعطاني الوقت والجهد في الإشراف العلمي والصبر على إنجاز هذا العمل المتواضع ليكون مرجع للمهتمين بهذا المجال سعادة الأستاذ الدكتور سامر إبراهيم.
- كما أتقدم بالشكر والامتنان الى جامعة البعث وكلية الطب البيطري ممثلة بعميدها الأستاذ الدكتور عبد الكريم قلب اللوز وجميع الأساتذة الأكارم ممن أعانونا بالخير وغمرونا بالمحبة
- قسم الأحياء الدقيقة بجميع منتسبيه
- رفاق الدرب طلاب الدراسات العليا و بالأخص د. محمد علي حمد، د. وليد العكور ، د. ضياء محمد طاهر ، د. سعد كليمان، د.هشام المعايطة، د.عبد الحافظ الطبش، د.عبد الكريم الشبيب،د. فؤاد داوود، د جعفر عبيدات كما أتقدم بالشكر لكل أخ وصديق وقف بجانبي وشجعني على انجاز هذا العمل المتواضع.
- الى وطني الحبيب موطن العرب الأول اليمن السعيد مع أمنيتي له بالتقدم والإزدهار
- كما أتقدم بالشكر الجزيل من كل قلبي لقلعة الصمود العربي سورية الحبيبة حكومة و شعباً لإحتضانها الطلبة العرب.
- وبالأخير أهدي هذا العمل المتواضع الى حزب البعث العربي الإشتراكي حزب النضال القومي، ممثل آمال وتطلعات الامة العربية في تحقيق الوحدة العربية.

د.حميد الرفاعي

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

تصـــريـــح

أصرح بأن هذا البحث والذي هو بعنوان (التقصي الوبائي عن التهاب الضرع المعدي المسبب بالمفطورات (المايكوبلازما) وغيرها عند الأغنام في المنطقة الوسطى من سورية) لم يسبق أن قبل للحصول على أية شهادة ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

التاريخ / /

المرشح

حميد علي ناجي الرفاعي

DECLARATION

It is hereby declared that this work (Epidemiological investigation of contagious mastitis caused by Mycoplasma and others in sheep in middle region of Syria) has not been accepted already for any degree , nor is being submitted concurrently for any other degree.

Date / /

Candidate
Hamid Al-refaie

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

فهرس المحتويات

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

فهرس المخططات والأشكال

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

فهرس الصور والأشكال

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

فهرس الجداول

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الفصل الأول

المقدمة: Introduction

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

1-المقدمة Introduction:

تعد الثروة الحيوانية في القطر العربي السوري أحد الأسس التي يعتمد عليها الدخل القومي . وتشكل الثروة الغنمية إحدى الركائز الأساسية لها، ويشهد القطر العربي السوري في السنوات الأخيرة زيادة مطردة في أعداد هذه الثروة حيث بلغ أعداد الأغنام في سورية (22,865,366 رأس) منها 15,771,430 رأس حلوب و 7,093,936 رأس غير حلوب. وبلغ إنتاج اللحم الكلي منها في عام 2007 بحدود 204,567 طن والحليب ومشتقاته 873,673 طن والصوف 24,633 طن طبقا للمجموعة الإحصائية الزراعية السنوية لعام 2007 الصادرة عن مديرية الإحصاء والتخطيط في وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي. تعد محافظتي حمص و حماه و ريفهما (المنطقة الوسطى) من أهم المناطق السورية الغنية بالثروة الغنمية حيث بلغ تعداد الأغنام في هذه المنطقة (5,907,796 رأس) موزعة على حمص (2,964,976) ، حماة (2,757,736)، الغاب (185,084 رأس) وطبقا للمجموعة الإحصائية الزراعية فقد بلغ أعداد الأغنام المنتجة للحليب في حماة 1918554 رأس وبلغ إنتاجها من الحليب (5743 طن) وفي حمص 2,370,847 رأس، بلغ إنتاجها من الحليب(47,684 طن) وفي الغاب 124,682 رأس وبلغ إنتاجها من الحليب(3141 طن). وعلى الرغم من الأهمية الاقتصادية الكبرى للأغنام، إلا أنها مازالت تعاني من العديد من المشاكل والمعوقات، وتأتي في مقدمتها الأمراض التي تحد من نمو وازدهار الثروة الغنمية وتسبب خسائر اقتصادية كبيرة من خلال ارتفاع نسبةات النفوق، انخفاض نسبةات الإنتاج وزيادة نسبةات استبدال الحيوانات المريضة وغير الصالحة للتربية (Aitken.,2007). كما أن معالجة الأمراض وصعوبة السيطرة على جائحات الأمراض الوبائية تزيد من الخسائر الاقتصادية (Mathur and Dubey, 1994). ويأتي التهاب الضرع في مقدمة هذه الأمراض إلى جانب الأمراض المعدية والوبائية، ويعتبر من أهم المشاكل الصحية عند الأبقار والأغنام الحلوب الواسعة الانتشار في معظم دول العالم (Moursu et al,1972;Madel,1983;Gross et al, 1987; Kimberling,1988; Leitner et al., 2004; Heringstad et al., 2005) بما فيها القطر العربي السوري (حاغور والياسينو، 1998). ويصيب التهاب الضرع كافة سلالات الأغنام ويسبب خسائر اقتصادية كبيرة تتجلى في تلف بعض أنسجة الغدة اللبنية وبالتالي تراجع ملحوظ في إنتاجية الحليب ونوعيته وحتى اختفائه ويؤدي أحيانا إلى نفوق الحيوان المصاب أو تنسيقه، وموت الحملان نتيجة الجوع أو المرض المنقول إليها من أمهاتها أو إصابتها بالأمراض المختلفة، وانخفاض أوزانها، يضاف إلى ذلك أيضا استبعاد الحليب من النعاج خلال فترة المعالجة وكلفة الرعاية البيطرية للنعاج المصابة(Contrars et al,1997). ويحتل التهاب الضرع

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المعدي المسبب بالمفطورات والعنقودية الذهبية و العقدية القاطعة للإدرار المرتبة الأولى من بين أنواع التهابات الضرع عند الحيوانات الحلوب نظرا لصعوبة المعالجة والسيطرة على هذا النوع من الالتهاب، وانتشاره بين الحيوانات بسرعة و بطرق مختلفة من الحيوانات المصابة إلى الحيوانات السليمة. ونظرا لأن هذه المسببات تملك عوامل فوعة مختلفة وتفرز ذيفانات تؤدي إلى نخر وتتكرز (مثل العنقودية الذهبية) النسج المفرزة للحليب مما يؤدي إلى تليف نسيج غدة الضرع ولا يعود النسيج المفرز إلى الوظيفة الإفرازية بعد الشفاء كما أن هذه المسببات لا تستجيب للمعالجة و يصبح التنسيق ضروري للسيطرة والتحكم بالتهاب الضرع المسبب بالمفطورات والعنقودية الذهبية، مما ينتج عنه خسائر اقتصادية كبيرة. كما أن انتقال هذه المسببات إلى الحملان الرضيعة يسبب إصابتها بالأمراض المختلفة مما يؤدي إلى نفوقها أو تراجع أوزانها، كما أن احتمال انتقال المفطورات من الأمهات المصابة عن طريق الحليب يؤدي إلى إصابة الحملان بالالتهاب الرئوي والتهاب المفاصل والتهاب الملتحمة والقرنية.

ونظراً للتأثيرات الاقتصادية الناتجة عن التهاب الضرع ولأهميته الوبائية وخصوصا التهاب الضرع المعدي وبالرغم من وجود بعض المؤشرات الدالة على التهاب الضرع المعدي المسبب بالمفطورات(المايكوبلازما) والعقدية الأجلكتية والعنقودية الذهبية في قطعان الأغنام، إلا أنه لا توجد دراسة حقلية وبائية ومخبرية مرجعية حول التهاب الضرع بمسبباته المذكورة في سوريا ولذلك فقد هدفت هذه الدراسة إلى ما يلي:

-أهداف الدراسة

1- عزل الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع المعدي(المفطورات والعنقودية الذهبية و العقدية القاطعة للإدرار)

2- إجراء التصنيف الجرثومي للتفريق بين الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع المعدي و بقية المسببات الأخرى المحدثة لالتهاب الضرع.

3- إجراء اختبار تحسس للجراثيم المسببة لالتهاب الضرع للصادات.

4- دراسة انتشار التهاب الضرع المعدي في قطعان الدراسة.

5- دراسة عوامل الخطورة المرافقة لحدوث التهاب الضرع المعدي.

6-تحديد استراتيجيات التحكم بالمرض من خلال دراسة عوامل الخطورة لالتهابات الضرع المعدي.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الفصل الثاني

2- الدراسة المرجعية:

Literature Review

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

2-الدراسة المرجعية

2-1-تعريف التهاب الضرع:

إن مصطلح Mastitis مشتق من الكلمة اليونانية Mastos التي تعني الضرع واللاحقة itis تعني الإلتهاب فتصبح الكلمة مجتمعة بمعنى التهاب الضرع (Nelson and Stephen, 2003). ويعرف التهاب الضرع على أنه التهاب غدة الضرع عند النعاج بغض النظر عن المسبب ويتصف بحدوث تغيرات كيميائية وجرثومية في الحليب وتغيرات مرضية في نسيج غدة الضرع (Matthews.,1999). وبشكل عام تعتبر الأحياء الدقيقة بما تمتلكه من عوامل ضراوة مختلفة من أهم مسببات التهاب الضرع عند الأغنام (Crist et al.,1996) ويحصل الالتهاب نتيجة دخول الأحياء المجهرية إلى الضرع ونموها داخله مؤدية إلى سلسلة من التفاعلات الالتهابيۃ التي تزيد من عدد خلايا الدم البيض في الحليب (Nelson and Stephen, 2003). ويعد التهاب الضرع من بين أكثر الأمراض أهمية من الناحية الاقتصادية عند قطعان الأغنام الحلوب (Radostits et al,2000).

2-2-الأهمية الاقتصادية للمرض:

يعتبر التهاب الضرع أحد الأمراض الأكثر أهمية من الناحية الصحية والاقتصادية عند الأبقار والأغنام الحلوب (Fthenakis and Jones,1990;Larsgard and Vaabnoe.,1993; Leitner et al., 2004; Heringstad et al., 2005)، فمن الناحية الصحية يؤدي إلى تلف جزئي أو كلي لغدة الضرع وتراجع في صحة النعجة المصابة ومن الناحية الاقتصادية يسبب خسائر مادية كبيرة في تربية الأغنام فهو سبب رئيسي لتنسيق وذبح النعاج المصابة، فقد ذكر(Holcombe, 2005) بأن تنسيق وذبح أغنام رامبويليت Rambouillet بسبب التهاب الضرع بلغ في الولايات المتحدة 46%، وما بين 13 و50% في المملكة المتحدة(Bocklisch & Wetzstein, 1994b)، كما أنه يسبب خسائر كبيرة لصناعة الألبان فيؤدي إلى انخفاض كبير بإنتاج الحليب وتدني بجودة ونوعية الحليب، حيث أشار (Menzies, 2000) إلى أن الخسائر في إنتاج الحليب بسبب التهاب الضرع تتراوح بين20 و37 % وهذا بدوره يؤدي أيضاً إلى انخفاض في أوزان الحملان. بالإضافة إلى التكلفة المرتفعة الناجمة عن معالجة النعاج المصابة.

2-3- تصنيف التهاب الضرع:

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

صنف التهاب الضرع بطرق مختلفة منها ما يعتمد على ظهور الأعراض أو درجة الالتهاب ومنها بحسب نوع المسبب، فمن حيث ظهور الأعراض عادة ما يصنف المرض إلى شكلين سريري ويشخص عيانياً أو باللمس و تحت سريري والذي يشخص بشكل أساسي عن طريق تقدير الخلايا الجسمية من خلال إجراء عد الخلايا الجسمية المباشر أو تقدير الخلايا الجسمية بشكل غير مباشر من خلال إجراء العديد من الاختبارات مثل اختبار كاليفورنيا واختبار وايت سايد أو يشخص من خلال إجراء الفحص الجرثومي لعينات الحليب.
.(Keisler et al.,1992;Radostits et al.,2000)

2-3-1- التصنيف حسب الأعراض أو درجة الالتهاب:

2-3-1-1- التهاب الضرع السريري:

يصنف التهاب الضرع السريري حسب درجة الالتهاب إلى فوق حاد و حاد و تحت حاد ومزمن. هذا الشكل من التهاب الضرع يمكن كشفه وتشخيصه بسهولة من خلال الفحص السريري للنعجة حيث أنه يكون مترافق بأعراض موضعية وجهازيه في العديد من الحالات وتتضمن الأعراض الموضعية الحرارة والتورم والألم. أما الأعراض الجهازيه والتي تظهر خصوصاً في حالة التهاب الضرع فوق الحاد (التهاب الضرع الغانغريني) والحاد فتتضمن الحمى، إنعدام الشهية، وصعوبة التنفس والعرج الذي يكون بسبب تورم الضرع، احمرار وجفاف جلد الضرع، وتنعزل النعجة المصابة عن باقي القطيع وتمنع حملانها من الرضاعة نتيجة الألم (Menzies and Ramanoon,2001;Milli et al .,2001).

كما أن التهاب الضرع السريري يتميز بتغيرات فيزيائية وكيميائية وجرثومية في الحليب وبتغيرات مرضية في نسيج غدة الضرع و تتضمن التغيرات في الحليب تغيراً في اللون والقوام ووجود خثرات متجبنة و أعداد كبيرة من الخلايا الجسمية ووجود الجراثيم المسببة للالتهاب، وتتضمن التغيرات في الضرع وجود تورم واحمرار والألم في العديد من الحالات .(Radostits et al, 1994)

2-3-1-2- التهاب الضرع تحت السريري (غير مرئي):

لا يستطيع المربي أو الطبيب كشفه بسبب عدم وجود أعراض أو تغيرات يمكن مشاهدتها بالعين المجردة. والأغنام المصابة بالتهاب الضرع تحت السريري قد تتطور لديها الإصابة وتتحول إلى التهاب ضرع سريري (Watkins et al ., 1991). ويحتاج هذا الشكل من الالتهاب إلى طرق نوعية لكشفه وتشخيصه. و يشخص عادة بتعداد الخلايا الجسمية في الحليب أو باستخدام اختبارات حقلية مثل اختبار كاليفورنيا وغيره من الاختبارات الحقلية السريعة أو يشخص بعزل و تحديد نوع الجراثيم المسببة له Diliello,1982)

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

.;Radostits et al., 1994; Quinn et al., 1999)

2-3-2- تصنيف التهاب الضرع حسب المسبب:

إن تصنيف التهاب الضرع عند الأغنام على حسب نوع المسببات الجرثومية لم يشير له أحد من الباحثين ولكن هذا التصنيف أشار له العديد من الباحثين عند الأبقار بشكل خاص، حيث أن مسببات التهاب الضرع تصنف كمسببات معدية أو مسببات بيئية. فالمسببات المعدية هي التي تسبب التهاب الضرع المعدي(contagious mastitis) أما المسببات البيئية فهي التي تسبب التهاب الضرع البيئي (Environmental mastitis). تعيش وتتكاثر المسببات المعدية على وفي غدة الضرع وتنتقل من نعجة إلى أخرى أثناء عملية الحلابة. تشمل المسببات المعدية كل من العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* والعقدية الأجلكتية (القاطعة للإدرار) *Streptococcus agalactiae* وأنواع المفطورات *Mycoplasma* species والوتدية البقرية Corynebacterium bovis (Radostits et al., 2000, .(Quinn et al., 2000

بينما تعيش المسببات البيئيۃ لالتهاب الضرع في البيئة التي يعيش فيها الحيوان وتعتبر العقديات البيئية والجراثيم سالبة غرام(القولونيات coliforms) هي المسببات الأكثر تكراراً لالتهاب الضرع البيئي (Hogan et al., 1999). تتضمن العقديات البيئية المحدثة لالتهاب الضرع عند الأبقار والأغنام والماعز العقدية ايبرس *Streptococcus uberis* والعقدية ديس أجلكتية*Strep. dysgalactiae* و العقدية ديس أجلكتية تحت النوع ديس أجلكتية *Strep dysgalactiae subsp. Dysgalactiae* والعقدية *Strept. equinus* والعقدية الخيلية *Strept. equi* وأنواع المكورات المعوية *Enterococcuss* species (Radostits et al., 2000). ومن الملاحظ أن العقدية ايبرس هي أكثر العقديات البيئية سيادة و انتشاراً (Jayarao et al., 1999). إن المسببات المعدية قادرة على إحداث التهاب الضرع بشكليه السريري وتحت السريري، وتتميز إصابات التهاب الضرع تحت السريري بشكل أساسي بارتفاع في عدد الخلايا الجسمية في الحليب المفرز من الضرع المصاب (Blowey and Edmondson, 2000; Radostits et al .,2000) بالإضافة إلى نتيجة اختبار كاليفورنيا التي تكون أكبر أو يساوي +1($\geq$+1 CMT). وبالمقابل فإن سير التهاب الضرع البيئي هو غالبا أكثر حدة مقارنة بالتهاب الضرع المعدي وبناء عليه فإن علامات التهاب الضرع البيئي هي أكثر وضوحاً من الناحيةالسريرية (Dopfer et al., 1999; Radostits, 2001; .Bradley, 2002)

2-4- مسببات التهاب الضرع السريري وتحت السريري عند المجترات الصغيرة:

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

توجد مسببات عديدة لالتهاب الضرع عند الأغنام، فقد تكون جرثومية أو فطرية أو فيروسية، وتعد المسببات الجرثومية والمفطورات من أهم المسببات. ذكر الباحثون (Bergonier et al 2003,) أن المكورات العنقودية هي المسبب الرئيسي لالتهابات الضرع عند المجترات الصغيرة بشكل عام، وأن العنقودية الذهبية هي أهم المسببات المعزولة من الحالات السريري لالتهاب الضرع، أما في الحالات تحت السريري لالتهاب الضرع، فأكثر الأنواع الجرثومية المعزولة هي المكورات العنقودية السالبة لأنزيم المخثراز(CNS) . ويعتبر التهاب الضرع الذي تسببه العنقودية الذهبية من أكثر أنواع الالتهابات انتشاراً عند الأغنام والماعز، حيث أن الجائحات الوبائية والمستوطنة لالتهاب الضرع عند المجترات الصغيرة تسببها العنقودية الذهبية بالإضافة إلى العقدية القاطعة للإدرار والعقدية الديس اجلكتية وكذلك العقدية البرازية والخنزيرية التي قد تسبب مثل هذه الجائحات بالإضافة إلى المسببات الانتهازية مثل فطور الرشاشيات والزائفة الزنجارية (وبشكل خاص خلال مرحلة الرضاعة والإدرار). بينما تعتبر العزولات الجرثومية التي تنتمي لمجموعة المكورات العنقودية السالبة لأنزيم المخثراز والزوائف والوتديات والباستريلة مسببات غير رئيسية لالتهاب الضرع السريري عند هذه الحيوانات (Bergonier and Berthelot,1993;Berriatua and Ziluag,2001). تعتبرالمكورات العنقودية السالبة لأنزيم المخثراز من أهم وأكثر المسببات الجرثومية لالتهاب الضرع تحت السريري وتصل نسبة التهاب الضرع تحت السريري المحدث بها من 25-93% بينما تصل نسبة التهاب الضرع تحت السريري الذي تحدثه العنقودية الذهبية 3-37%. ومن أهم المكورات العنقودية السالبة لأنزيم المخثراز التي تحدث التهاب الضرع تحت السريري العنقودية البشروية *Staph. epidemidis* والعنقودية سيمولانس *Staph.simulans* والعنقودية الصباغية *Staph. chromogene* والعنقودية اكسيلوز *Staph. xylosus*. (Bergonier et al,1996;Ariznabarreta et al,2002; Albenzio et al,2002;Bergonier and Berthelot,2003).

2-5-المسببات المعدية لالتهاب الضرع عند الأغنام (العنقودية الذهبية و العقدية الأجلكتية القاطعة للإدرار وبعض أنواع المفطورات):

2-5-1- المفطورات *Mycoplasma species*: بما أن متلازمة جفاف الضرع الساري أو المعدي تسبب أعراض أخرى غير التهاب الضرع فإن بعض الباحثين أو المؤلفين يهمل اعتبار أنواع المفطورات كمسببات لالتهاب الضرع عند الأغنام والماعز، لكن التأثيرات الحادة والشديدة لهذه الممرضات ودورها في انخفاض إنتاج الحليب وانقطاعه وزيادة أو ارتفاع عدد الخلايا الجسمية في الحليب في حال إصابة غدة الضرع جعلت متلازمة جفاف الضرع أحد الأسباب الأكثر أهمية لإلتهاب الضرع في المناطق التي يستوطن فيها المرض

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

حيث يكثر تكرار حدوث حالات التهاب الضرع السريري وتحت السريري في قطعان الأغنام الحلوب المسبب بأنواع جنس المفطورات، بالإضافة إلى الخسائر المعنوية والهامة بسبب النفوق الذي تسببه هذه الممرضات أو الحاجة إلى تنسيق وذبح الحيوانات المصابة (Corrales et al.,2004) وتعتبر المفطورة الأجلكتية من أهم العوامل الممرضة عند المجترات الصغيرة والتي تسبب جفاف الضرع الساري contagious agalactia عند الأغنام والماعز(Bergonier et al. 1997) وهو مرض شديد العدوى للأغنام والماعز ومشمول ضمن القائمة B للأمراض المعدية حسب تصنيف مكتب الأوبئة الدولى للأمراض المعدية OIE (Madanat et al .,2001) والعامل المسبب لهذا المرض هو المفطورة الأجلكتية بشكل أساسي وخصوصا عند الأغنام ومع ذلك فإن التغيرات المرضية السريرية المشابهة عند هذه الحيوانات يمكن أن تسببها أنواع المفطورات الأخرى (Nicholas 1996; Sarris 1996; Bolske 1994 والتي تشمل المفطورة ميكوئيديس تحت النوع ميكوئيديس *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* ذات المستعمرات الكبيرة LC والمفطورة الماعزية تحت النوع الماعزي M. *capricolum subsp. Capricolum* والمفطورة ميكوئيديس تحت النوع الماعزي *Mycoplasma mycoides subsp. Capri* وهناك مرض مشابه جدا لجفاف الضرع الساري موجود فقط عند الماعز تسببه المفطورة المزنخة *Mycoplasma putrefaciens* (Bergonier et al, 1997).

تصنف المفطورات ضمن صف الرخيصات class Mollicutes، رتبـــــة المايكوبلازما Mycoplasmatales Order وتصنف هذه الرتبة تبعا لإحتياجاتها الغذائية (خصوصا احتياجها للستيرول)، الفعاليات البيوكيميائية (الفعاليات كيمياء حيوية) ،حجم الجينوم، الشكل و الخواص المصلية إلى ثلاث عائلات وهي عائلة المايكوبلازما (المفطورات) mycoplasmataceae التي تحتاج الكوليسترول للنمو وتشمل خمسة أجناس بعضها ممرض للإنسان والحيوان والنبات والحشرات والبعض يعيش بصورة حرة في البيئة أو في الحيوانات، وعائلة اكوبلازما acholeplasmataceae وهي لاتحتاج الستيرول للنمو والعائلة الثالثة هي سبايروبلازما spiroplasplasmataceae وهي لولبية الشكل متحركة وتحتاج إلى الستيرول للنمو وهي ممرضات بالدرجة الاولى للنبات والحشرات. تضم عائلة المايكوبلازما جنسين هامين بالنسبة للحيوانات وهما: جنس المايكوبلازما genus mycoplasma وجنس اليوروبلازما genus ureaplasma. وجنس المايكوبلازما يضم حوالي 65 نوعاً تحدث أمراضاً مختلفة عند الإنسان والحيوان. المفطورات لها ارتباط نوعي وخاص بعضوية المضيف أو لديها توجه نوعي لمواضع تشريحية محددة بجسم الثوي (Bisping and Amtsberg **., 1988**;Maniloff .,1992) .

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

تعد المفطورات بشكل عام خلايا بدائية النواة وأصغر الأحياء الدقيقة المجهرية (حجم الخلية أقل من 300 نانومتر) التي يمكنها أن تعيش وتتكاثر بشكل مستقل خارج الخلية ولها قابلية المرور من خلال المرشحات الجرثومية، تفتقد الجدار الخلوي ولهذا تقاوم البنسلين والصادات الأخرى التي تؤثر على الجدار الخلوي ولكنها تحاط بغشاء مرن يتكون من ثلاث طبقات يحيط بالهيولا والأحماض النووية والمكونات الايضية الأخرى الضرورية لحياة المفطورات بصورة حرة. تعتبر المفطورات متعددة الأشكال نظراً لغياب الجدار الخلوي ووجود الغشاء الهيولى ثلاثي الطبقات، والشكل الأساسي الأكثر شيوعا لها هو الشكل المكور(coccoid 0.3 –0.8 ميكرون). معظم المفطورات لا هوائية مخيرة ولكنها تنمو هوائياً ونمو البعض منها يتحسن عند حضنها في جو يحوي 5–10% من ثاني أوكسيد الكربون. توجد ذراري من أنواع المايكوبلازما تحتاج إلى ظروف لاهوائية محكمة للنمو. درجة الحرارة المثلى لنمو الأنواع المرضية من المفطورات هي 36–38 مْ ودرجة باهاء PH الوسط الملائم لنمو معظم أصناف المفطورات يتراوح بين 7–8 ويكون نمو المفطورات ابطأ من نمو الجراثيم. تحتاج المفطورات لمتطلبات غذائية فائقة خصوصا احتياجها للشحوم لغرض تخليق الغشاء الهيولي ولها أوساط زرعيه خاصة بها مثل PPLO (pleuropneumonia like organisms) والذي يضاف له المتطلبات الغذائية الضرورية لنموها مثل الغلوكوز، أرجنين، خلاصة الخميرة، 20 % مصل دم الحصان ويضبط باهاء الوسط بين 7–8 حسب نوع المفطورة، كما يضاف للوسط البنسلين وخلات الثاليوم thallus- acetate لمنع نمو الجرثومية الملوثة. يبلغ حجم مستعمرات المفطورات 0.5 –1 ملم وهي ذات مظهر خاص يشبه شكل البيض المقلي Fried-egg colony يساعد هذا الشكل المميز للمستعمرات على تمييزها عن مستعمرات الجراثيم الأخرى، وهذه المستعمرة تتكون من مركز عميق اللون ناتج من اختراق مركز أو لب المستعمرة للوسط الزرعي واحاطته بنمو سطحي دائري شفاف أبهت لونا من المركز ويتم الكشف أو مشاهدة هذه المستعمرات بفحصها بالمجهر المجسم . ويمكن تمييز شكلين من المستعمرات: مستعمرات كبيرة (large colony L C) تتميز بنمو سريع، تشكل عكر أكثر وضوحا في شوربة المفطورات PPLO broth، محللة للبروتين (proteolysis+)، محللة للكازئين (+ caseolosis)، قابلة للنمو أو أكثر ثباتا بدرجة 45°م. تصيب الأغنام والماعز وتسبب عندها التهاب الضرع والتهاب المفاصل والتهاب الملتحمة والقرنية والتهاب الرئة، الإجهاض. ومستعمرات صغيرة small colony نموها بطيء، لا تشكل عكر واضح في شوربة المفطورات، غير محللة للبروتين (–)، غير محللة للكازئين (–)، ضعيفة النمو بدرجة 45 (ضعيفة الثبات)، يشمل هذا النمط من المستعمرات كل أنواع المفطورات المسببة لالتهاب غشاء الجنب والرئة عند الأبقار وبعض الذراري

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المسببة لالتهاب المفاصل والرئة عند الماعز. (Bisping and Amtsberg .,1988; Whithear et al.,1990; Quinn et al 1998;Gyles et al.,2004)

ولما كانت المفطورة الأجلكتية هي أكثر أنواع المفطورات المسببة لجفاف الضرع المعدي عند الأغنام، لذلك سنتناولها بشيء من التفصيل فقد وصفت على أنها عضويات صغيرة جداً حجمها 124−250 نانومتر، تملك مورث صغير جدا (1.109 Da) وليس لها جدار خلوي، لكن يحيط بالنواة غشاء هيولى كما هو الحال عند جميع المفطورات، تتأثر بالمطهرات وتتكاثر بالتبرعم أو بالانشطار الثنائي وهي سالبة لصبغة غرام وهي ضعيفة التلوين بهذه الصبغة ولا تصطبغ بصورة جيدة بالأصباغ الانيلينية ويمكن الحصول على نتائج أفضل عند صبغها بصبغة جيمزا بعد تثبيتها بالكحول الميثيلي وتستعمل صبغة دنيس لصباغة المستعمرات على الآغار (Quinn,et al, 1998) وتنمو بشكل جيد على الأوساط السائلة والصلبة الخاصة بالمفطورات والمضاف لها الستيرولات والمتطلبات الغذائية الأخرى مثل مصل دم حصان 20% للمنبت و خلاصة الخميرة وخلات الثاليوم التي تمنع نمو الأحياء الدقيقة المرافقة (Freundt ,1983). تعتبر خلايا المفطورة الأجلكتية حساسة للديجيتونين، لا تخمر الغلوكوز ولا تحلل الأرجنين أو اليوريا. الذراري المعزولة حديثا تبدي نمواً بطيئاً، لكن بعد التكيف للظروف المخبرية يمكن أن تنمو في معظم الأوساط السائلة والصلبة الخاصة بها بشكل أسرع بوجود جو رطوبة مع وجود 5%من ثاني اكسيد الكربون ويمكن أن يكون وجود الشمعة candle gar كافٍ لنموها، والمستعمرات النامية تشبه شكل البيض المقلي (Freundt 1983;Cottew 1985; Lambert.,1987; Tsaknakis et al. 1992 ; Bergonier et al. 1997;Quinn,et al 1998)

فيما يتعلق بإمراضية المفطورة الأجلكتية فإن طرق العدوى الأكثر شيوعا لدخول العامل المسبب هي الفم والمسالك التنفسية وقناة حلمة الضرع ، ففي حال حصول العدوى عن طريق الفم، فإن المكان أو الموقع المفترض لالتصاق العامل المسبب هو الأمعاء، هذه الفرضية أكدت في الدراسات التي عزلت فيها المفطورة الأجلكتية من مسحات المستقيم ومن مسحات الأمعاء الدقيقة المصابة بالعدوى التجريبية (Hasso et al,1993). ثم ينتقل العامل المسبب من مكان الغزو الأولي إلى الدم ويتطور لدى الحيوانات المصابة تجرثم دموي مصحوب بالحمى وبعد ذلك ينتقل العامل المسبب عن طريق الدم واللمف إلى الأعضاء المستهدفة مثل الضرع والعين والعقد اللمفاوية والمفاصل والأوتار. تميل المفطورة للالتصاق بخلايا الثوي بواسطة عامل الالتصاق الخلوي P40 وهو عبارة عن بروتين شحمي يتوسط الإلتصاق بخلايا العضو المصاب مثل الخلايا الزليلية. تحدث التغيرات الالتهابية في الأعضاء المصابة ويمكن أن تجهض الإناث الحوامل بسبب التهاب الرحم أو يمكن أن تلد مواليد غير قابلة للحياة

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

وقد تظهر تغيرات التهابية في الخصي عند الذكور . ويمكن أن يدخل العامل المسبب عن طريق قناة الحلمة وذلك نتيجة الحلابة الخاطئة أو استخدام أدوات الحلابة المعيبة (Da Masssa et al. 1987; Kinde et al.,1994; Fleury et al. 2002) . ينتشر المرض بسرعة بين الحيوانات المصابة والسليمة، حيث يتم طرح العامل المسبب للمرض إلى البيئة المحيطة عن طريق الإفرازات العينية والأنفية للحيوانات المصابة أو عن طريق الحليب والروث والبول وإفرازات المفاصل المصابة نتيجة فتحها أو تنتقل من الذكور المصابة عن طريق القناة البولية التناسلية. وتنتقل العدوى عن طريق تلوث الحلمات بواسطة أدوات الحلابة أو أيدي الحلابين الملوثة بالعامل المسبب. معظم إصابات الحيوانات الصغيرة تنتج عن طريق تناول اللبأ أو الحليب الملوث بالعامل المسبب. كما تنتقل الإصابة إلى الحيوانات البالغة عن طريق استنشاق الإفرازات الأنفية من الحيوانات المصابة أو عن طريق الأدوات والفرشة الملوثة بالعامل المسبب ويلاحظ انتشار المرض في موسم الربيع وخصوصاً في موسم الولادات وعندما تكون النعاج في موسم الحلابة والرضاعة وترعى في المراعي. Lambert (1987; Real et al. 1994; Kinde et al., 1994).

سجلت زيادة بأعداد الحيوانات المصابة في بداية الصيف عندما تكون الحيوانات الصغيرة حساسة جداً للعدوى، ويمكن أن يستمر المرض في القطيع لعدة أشهر ما لم تتخذ الإجراءات المناسبة والكافية في الوقت المناسب للسيطرة على المرض، ويمكن أن يعود المرض في أغلب الأحيان في موسم الإرضاع التالي أو حتى في السنوات التالية ويمكن أن يعود ويستمر لعدة سنوات لاحقة (Da Massa and Brooks 1991; Bergonier et al. 1996d). من الناحية الوبائية فإن العامل المسبب يفرز مع الحليب والروث لمدة لا تقل عن 12 شهر ويمكن أن تصل هذه المدة كحد أقصى 8 سنوات ويمكن أن يترافق ذلك مع أعراض سريرية معتدلة أو بدون أعراض سريرية ووجود الحيوانات الحاملة والناقلة للمرض يشكل خطراً شديداً على صحة الحيوانات السليمة (Bergonier et al. 1997). لقد تبين أن الحيوانات الأخرى مثل الماشية والجمال والمجترات البرية الصغيرة تعمل كخوازن للعامل المسبب ومصدراً للعدوى (Perrin et al., 1994). ينتشر التهاب الضرع المسبب بالمفطورة الأجلكتية في البلدان التي يوجد فيها تربية مكثفة للأغنام والماعز وخصوصاً في منطقة البحر الابيض المتوسط وشبه جزيرة البلقان في أوربا وفي غرب أسيا وشمال ووسط افريقيا (Lambert., 1987; Bergonier., 1997) . تأتي الأهمية الاقتصادية للإصابة بالمفطورات نتيجة التأثيرات الحادة والشديدة لهذه الممرضات ودورها في انخفاض إنتاج الحليب وزيادة أو ارتفاع عدد الخلايا الجسمية في الحليب، بالإضافة إلى الخسائر المعنوية والهامة بسبب النفوق الذي تسببه هذه الممرضات أو الحاجة إلى تنسيق وذبح الحيوانات المصابة. بالرغم من أن جفاف الضرع

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

لا يبدي نسبة نفوق عالية، فإن نسبة الإصابة الناجمة عن هذا المرض في القطعان تتراوح بين 30−60 % وتترافق الإصابة بانخفاض إنتاج الحليب أو توقفه بشكل كامل أو إجهاض الإناث الحوامل مما يسبب خسائر اقتصادية كبيرة. المسار الحاد للمرض قد ينتج عنه نفوق الحملان والجدايا (اعلى من 40−70%)، و في قطعان التربية المكثفة قد تصل نسبة الخسائر الى 15−20%. ففي البلدان التي تلعب فيها منتجات الأغنام والماعز دوراً مهماً كمكونات غذائية فإن جفاف الضرع المعدي يشكل مشكلة صحية كبيرة من الناحية البيطرية بالنسبة لصحة القطعان وانعكاس ذلك على إنتاج هذه القطعان من الحليب والمواليد (Madanat et al ., 2001; Corrales et al.,2004) . يبنى تشخيص جفاف الضرع المعدي على أساس العلامات الوبائية والأعراض السريرية، والتشخيص يكون سهلاً نسبيا عندما تلاحظ الأعراض السريرية الثلاثة النموذجية في القطيع مثل انخفاض إنتاج الحليب والتهاب الضرع والتهاب القرنية والملتحمة والآفات المفصلية. وتصبح العلامات السريرية واضحة عند كل من الأغنام والماعز بعد فترة قصيرة من الولادة عندما تكون الحيوانات في مرحلة الحلابة والإدرار حيث يتطور لديها التهاب الضرع، والشكل الأكثر شيوعا هو التهاب الضرع المصحوب أو المترافق بإفراز حليب أخضر مصفر، والتعقيدات العينية يمكن أن توجد فقط في 50% من الحالات، العرج شائع وقد يستمر لوقت طويل حيث يلاحظ بتواتر اكبر عند الذكور من الإناث، لكن عندما يكون للمرض شكل واحد فإنه من الصعب تشخيصه سريرياً. لكن التشخيص المخبري التأكيدي يجب إجراؤه لتأكيد التشخيص الحقلي السريري وقد وصفت العديد من الطرق المخبرية لتشخيص الإصابة بالتهاب الضرع وأفضل العينات لإجراء التحليل وعزل العامل المسبب من الحيوانات الحية المشتبهة بإصابتها بالمرض هي الحليب حيث أن المفطورة الأجلكتية موجودة بأعداد كبيرة في إفرازات الغدد الضرعي ة المصابة وكذلك يمكن عزلها من السوائل العينية والأنفية والنضح الالتهابي المفصلي والدم والبول وخصوصاً في حالات التهاب الملتحمة والقرنية والتهاب المفاصل. أما من أجل إجراء الفحص والعزل الجرثومي للحيوانات بعد النفوق فتجمع العينات من الضرع والعقد اللمفاوية الموضعية والآفات الرئوية والنضح المفصلي ويمكن أن تعزل المفطورات من الكبد والطحال والكلي ولكن يجب أن تجمع العينات في مرحلة التجرثم الدموي. يتم إجراء الزرع الجرثومي على أوساط سائلة أو صلبة خاصة مضاف لها مواد تعزز نمو المفطورات حيث تنتج المفطورة الأجلكتية مستعمرات مجهرية دقيقة وتدية الشكل منغرسة داخل المنبت يعلوها سطح عريض عاتم في المركز وناعم شفاف في الاطراف يشبه المسمار أو شكل البيض المقلي (ambert ., 1987). كما يمكن التمييز بين أنواع المفطورات باجراء الأختبارات الكيمياحيوية مثل: اختبار تخمير الغلوكوز حيث أن المفطورة الأجلكتية غير مخمرة

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

للغلوكوز، غير محللة للأرجنين، فعاليتها ايجابية لأنزيم الفوسفاتيز phosphatase activity، غيرمحلمهة لليوريا. تتضمن الطرق المصلية المستخدمة للتمييز والتفريق بين أنواع المفطورات اختبارات منع النمو growth-inhibition، واختبارات منع الاستقلاب metabolism-inhibition tests واختبار التألق المناعي الفوقي epi-immunofluorescence واختبارات البيروكسيداز peroxidase tests، اختبار المقايسة المناعية بالأنزيم المرتبط (ELISA)، اختبار تثبيت المتممة (CFT) (Bergonier et al. 1997;Quinn,et al 1998) ومؤخرا أصبح الكشف الجيني ممكناً بتطوير المسابر الجينية أو المورثية، عادة ما تكون المسابر مكملة لقطع الــ DNA أو RNA الرسول 16S (Mattson et al. 1991; Dedieu et al. 1992; Tola et al. 1994). بالرغم من الحساسية العالية لهذه الطريقه وسهولة استخدامها في تشخيص الإصابة بالمفطورات إلا أن المحاولات البحثية research efforts مؤخراً ركزت على تطوير تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR التي تبدو أنها حساسة بدرجة أكبر و يمكن تطبيقها على العينات الإكلينيكة (Dedieu et al. 1995; Tola et al. 1996; Tola et al. 1997)

2-5-2- العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*:

يقسم مصطلح *Staphylococcus* الى قسمين *Staphyle* ويعني باليونانية عنقود العنب والقسم الثاني *Coccus* ويعني حبيبات (Ryan &Ray, 2004) تنتمي هذه المسببات إلى جنس العنقوديات *Staphylococcus* وعائلة المكيرات *Micrococcaceae*، التي تشمل العنقوديات *staphylococci* والمكيرات *micrococci* و *stomatococcus* (Gyles et al.,2004)، وهي مكورات ايجابية لصبغة غرام، تنتظم بشكل مفرد أو ثنائي أو على شكل سلاسل قصيرة (من ثلاث إلى أربع مكورات) تتجمع على شكل عنقود يشبه عنقود العنب، يبلغ متوسط قطر الخلية 1.0 µm (ميكرومتر)، هوائية أولا هوائية مخيرة، ايجابية للكاتاليز، سالبة للأوكسيداز، غير متحركة، مخمرة لسكاكر الجلوكوز والمانتول والمالتوز ... تنمو على الشوربة المغذية ووسط الاغار المغذي والاجار الدموي ولاتنمو على وسط اجار الماكونكي (Quinn, et al.,1999;Hermans et al .,1999). مخمرة لسكر المانتول على وسط اجار المانتول المالح (manitol salt agar) الذي يعتبر وسطاً انتقائياً للمكورات العنقودية بالاضافة الى وسط اجار شابمان الذي يعتبر وسط انتقائي لها ايضاً حيث يحتوي على ملح الطعام (كلوريد الصوديوم) بنسبة عالية وتنمو أيضاً على عدد من الأوساط الانتقائية مثل وسط أغار بيروفات الجلايسين بالتيليوريت وصفار البيض وهذا الوسط يحتوي على كلوريد التيليوريت والليثيوم لمنع نمو الجراثيم الملوثة واضافة صفار البيض للوسط للبرهان على امتلاك الجرثومة لانزيم الليباز (**1988 .,** Bisping and Amtsberg). تعطي

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

العنقودية الذهبية على وسط الآغار المغذي ووسط الآغار المدمى مستعمرات دائرية ناعمة، منخفضة التحدب، متألقة، زبدية القوام، وفي بعض الأحيان تحاط بمنطقة تحلل دموي ضيقة على وسط الآغار المدمى وذلك حسب الذرية. تصبح المستعمرات القديمة نصف شفافة ولزجة، الذراري المتمحفظة تكون مستعمراتها كبيرة محدبة ومتألقة، تصبح مخاطية لدرجة انها تتحرك على سطح المنبت، متميزة بتشكل صبغة عندما تكون نامية هوائيا و تتراوح الصبغة من اللون الكريمي والاصفر الى اصفر ذهبي ويتعزز تشكل الصبغة على الاوساط الغنية بالدهون مثل وسط tween agar. تكون مستعمرات الذراري النامية لا هوائيا صغيرة الحجم رمادية اللون (Quinn, et al.,1999).

2-5-2-1-عوامل الفوعة للعنقودية الذهبية:

وصفت العديد من عوامل الضراوة كعوامل مهمة في إصابات العنقوديات ومعظم هذه العوامل درست في العنقودية الذهبية لكن بعضاً منها موجود أيضا في العنقودية المتوسطية S.intermedius وفي أنواع أخرى. تنتج العنقودية الذهبية عدد من الذيفانات والأنزيمات، البعض من هذه العوامل غير مشكوك بضراوتها وأخرى دورها قليل الوضوح (Gemmel.,1985). يمكن أن تقسم عوامل فوعه العنقودية الذهبية إلى مكونات مرتبطة بالخلية وأنزيمات خارجية وذيفانات خارجية (Grov., 1973; Projan and Novick ,.. 1997; Soell et al. 1995). ومن أهم الأنزيمات الخارجية التي تنتجها العنقودية الذهبية المخثراز Coagulase حيث يقسم جنس العنقوديات اعتمادا على اختبار المخثراز (coagulase test) إلى أنواع ايجابية للمخثراز مثل العنقودية الذهبية (S. aureus) وعنقوديات سالبة المخثراز(CNS)، فالأنواع المنتجة لأنزيم المخثراز تكون قادرة على تخثير بلازما دم الأرانب (Devriese 1994). وأنزيم المخثراز عبارة عن بروتين خارج خلوي يرتبط مع البروثرومبين في الثوي ليشكل معقد الثرومبين العنقودي staphylothrombin، الفعالية الإنزيمية التي يتم تنشيطها في المركب المتشكل تؤدي إلى تحويل مولد الليفين الى ليفين. إن أهمية المخثراز كعامل ضراوة محدود بالرغم من أن الجراثيم يمكنها أن تحمي نفسها من الدفاعات المناعية وعملية البلعمة للثوى بتشكيل خثرة موضعية (Projan and Novick .,1997). كذلك يعد إنزيم الهيالورينات وإنزيم الهيالورنيداز Hyaluronate Lyase and Hyaluronidase من أهم الأنزيمات التي تنتجها العنقودية، وينتمي هذين الأنزيمين إلى مجموعة الأنزيمات الهاضمة لحمض الهيالورنيك وتكون مترافقة بضراوة العامل المسبب، وهي مقترحة أنها تقوم ببلمرة حمض الهيالورنيك الموجود في النسيج الضام وتساهم في العمليات المعدية للعامل المسبب عن طرق تعزيز

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الانتقال من خلال ذوبان النسج (Farrell et al. 1995). وهناك عدد من الأنزيمات التي تنتجها العنقودية الذهبية مثل اللبياز والبروتياز وهي ذات أهمية دفاعية أو مرضية، أما الذيفانات الخارجية Exotoxins فتشمل الذيفان المعوي و ذيفان متلازمة الصدمة التسممية Toxic-shock Syndrome toxin &Enterotoxins والذيفان الحال للبشرة Epidermolytic Toxins و حالات لكريات الحمر ألفا وبيتا وجاما(α ، β ،ð) والذيفان السام للكريات البيض Leukocidin (Ho et al.,1989). يسبب الذيفان المعوي الإسهال و الإقياء عندما يبتلع، والذيفان المعوي مسؤول عن التسممات الغذائية (Bergdoll ., 1983).
فيما يتعلق بإمراضية العنقودية الذهبية، فإن الإصابة بالتهاب الضرع المسبب بالعنقودية الذهبية تتم عن طريق الحلمة حيث تستعمر العنقوديات قمة حلمة الضرع وخصوصاً عندما تكون متضررة أو متآكلة، ثم تعبر خلال قناة الحلمة إلى داخل صهريج الحليب وقد تقيم بعد ذلك في منطقة النسج الافرازية. يتضمن التأثير المرضي للعنقودية الذهبية على غدة الضرع على الأرجح مفهوم الاستعمار النوعي المتوافق مع النسج المصابة. يشير التصاق العنقودية الذهبية بالخلايا الظهارية لقنيات وأسناخ غدة الضرع إلى أن غزو هذه المسببات قد يكون خطوة مهمة لتطور التهاب الضرع (Nelson et al. 1991; Cifrian et al .,1994; Wanasinghe., 1981).

يعد الحليب وسطاً مناسباً لتكاثر العنقوديات، فخلال تكاثرها تنتج الذيفان السام للخلايا الذي يسبب إرتتشاح العدلات إلى غدة الضرع (ارتشاح غدة الضرع بالعدلات). يؤدي تراكم العدلات الى تشكل خثرات بالحليب وتشكل وذمة بين الاسناخ اللبنية. إن وجود العنقوديات والعدلات يسد الفصيصات اللبنية، كما أن تراكم الأرومات الليفية والبلاعم والليمفاويات يسبب توسع النسج الضامة بين الأسناخ اللبنية. تبقى الجراثيم في الأسناخ والقنوات اللبنية حيث أنها تطرح بشكل متقطع. تنتقل العنقودية الذهبية بسهولة خلال عملية الحلابة عن طريق أكواب الحلابة الملوثة أو أيدي الحلابين. إن نمط الالتهاب المسبب بالعنقودية الذهبية يتراوح من التهاب ضرع تحت سريري إلى التهاب ضرع فوق حاد مهدد لحياة الحيوان، إحدى هذه الأشكال هو التهاب الضرع الغانغريني، وهو مسبب بفعل الذيفان ألفا الذي يؤذي أو يضر الأوعية الدموية، وينتج عنه النخر المخثر الإقفاري للنسج المجاورة أو المتاخمة، ويصبح نصف الضرع المصاب مزرق، بارد وفي آخر الأمر يسقط أو يتخشر، إذا بقي الحيوان على قيد الحياة فانه قد يصاب بتسمم الدم. يؤدي كل من التهاب الضرع المزمن وتحت السريري المسبب بالعنقودية الذهبية الى تبدل تدريجي للنسج الإفرازية بنسج ليفية يعقبه انخفاض بإنتاج الحليب في نصف الضرع المصاب. يستجيب كل من التهاب الضرع المزمن وتحت السريري

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

بشكل سيء للمعالجة بالصادات بسبب تطور الحواجز النسيجية الليفية التي تمنع نفوذ أو دخول المضاد الحيوي إلى مكان الإصابة (Quinn, et al.,1999).

2-5-3- العقدية الأجلكتية (القاطعة للإدرار) Strep. agalactiae:

تنتمي هذه الجراثيم الى عائلة العقديات Streptococcaceae، جنس العقدية Streptococcus ويشمل هذا الجنس 40 نوعاً تقريباً. قسمت المكورات العقدية اعتماداً على التركيب المستضدي لها إلى مجموعات مصلية، وذلك حسب نوع عديد السكريد الداخل في تركيب جدار الخلية، ومن خلال اختبارات الترسيب استطاعت العالمة لانسفيلد أن تكتشف وجود 40 مجموعة مصلية تقريبا أطلقت عليها الأحرف A,B,C,…. تنتمي العقدية القاطعة للإدرار إلى المجموعة المصلية B وهذه المجموعة تضم فقط العقدية الأجلكتية وهي مسبب مهم لالتهاب الضرع المعدي عند الأبقار الذي يأخذ الشكل تحت السريري أو المزمن كما أنها تسبب التهاب ضرع عند الأغنام والماعز والجمال كما تسبب التهاب شغاف القلب عند البشر والتهاب الجريبات عند الأطفال والتسمم الدموي عند حديثي الولادة كما أنها تسبب التهاب السحايا عند البشر. العقدية الأجلكتية عبارة عن جراثيم مكورة الشكل ايجابية لصبغة غرام، يبلغ قطر كل مكورة حوالي 1 ميكرون، غير متبوغة، غير متحركة، تنتظم عادة بشكل سلاسل مختلفة الطول أو على شكل أزواج أو على شكل مكورت مبعثرة أو مفردة، هوائية أو لاهوائية مخيرة، وتحتاج لنموها اضافة الدم أو المصل إلى وسط الزرع، تنمو عل ى الأوساط السائلة على شكل سلاسل متباينة الطول وتجعل الوسط ضبابياً ويتشكل راسب ندفي. يسبب نموها على وسط الآغار المدمى تحلل كريات الدم الحمراء ويكون تحلل الدم كاملاً حيث يكون نطاق التحلل واضح يحيط بالمستعمرة الجرثومية ويسمى هذا التحلل بتحلل بيتا (β) أو تحلل دموي جزئي(ألفا α) أو تحلل من نمط جاما(ð) (لايوجد تحلل دموي). بشكل عام فان العقديات المحللة للدم من النمط بيتا تميل لتكون أكثر إمراضية للحيوانات. ومن خواصها الكيماحيوية أنهاتخمر العديد من السكاكر وتشكل أحماضاً دون انطلاق غاز ولا تحلل سكرالأسكولين على منبت إدوارد التمييزي للعقديات بعكس العقدية يوبرس التي تكون محللة للاسكولين، كما العقدية القاطعة للإدرار ايجابية لاختبار كامب ومحللة لهيبورات الصوديوم وغير مخمرة للمانتول.;Bisping and Amtsberg ., 1988)

(Quinn, et al.,1999 ; Gyles et al.,2004. تمتلك العقدية الأجلكتية عدد من عوامل الضراوة ومعظمها تم استنباطها من خلال الدراسات التي أجريت على الذراري البشرية لذا يجب أن تفسر بحذر في سياق التهاب الضرع عند الأغنام. ومن أهم عوامل الضراوة عديد السكري المحفظي capsular polysaccharide (Lancefield et al. 1975). كما أن العقدية الأجلكتية تمتلك عامل كامب CAMP factor وهوعبارة عن بروتين سيراميد الرابط

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

kDa 23.5 للعقدية الاجلكتية الذي يكون قادراً على تنشيط سفينغوميالين sphingomyelinase العنقودي (الذيفان بيتا). إن الخواص المميته لهذا البروتين بالنسبة للمزارع الخلوية وللفئران والأرانب تقترح أن هذا البروتين قد يملك تأثيراً ساماً لخلايا نسج غدة الضرع (Hollingshead et al., 1989). ومن عوامل الضراوة المحتملة الأخرى للعقدية الاجلكتية التي تؤثر على غدة الضرع النيورأميناز neuraminidase، الحالة الدموية hemolysin، الذيفان خارج الخلوي الفعال في الأوعية الدموية vasoactive toxin extracellular و الحمض الدهني lipoteichoic acid. فيما يتعلق بإمراضية العقدية القاطعة للإدرار فإنها تدخل إلى غدة الضرع من خلال فتحة حلمة الضرع، إن التصاقها بالخلايا الظهارية لجيوب غدة الضرع يساند استعمارها لغدة الضرع. حيث أن التدفق الخلفي للحليب الملوث (ارتداد الحليب الملوث إلى داخل الحلمة) أثناء الحلابة هو عامل مهم في حدوث التهاب الضرع وخصوصاً عندما تكون العضلة العاصرة للحلمة مرتخية وفتحة الحلمة مفتوحة. بالرغم من أن العقديات قلما تخترق الظهارة فإن الحيوانات الحلوب قد تواجه الغزو العابر أثناء الأيام القليلة الأولى بعد الولادة حيث تدخل الأحياء الدقيقة إلى اللمف وتنتقل بعد ذلك إلى العقد اللمفاوية فوق الضرع. تتحرر عوامل الجذب الكيميائية من خلايا المضيف المتضررة وتجذب العقدية القاطعة للإدرار وبالتالي تجذب العدلات التي تبتلع الجراثيم وتقتل الكثير من العقديات الغازية (Frost et al., 1977). تقيم أو تستقر العقدية القاطعة للإدرار في الحليب وعلى سطح القنوات اللبنية ولكنها لا تغزو النسج، ويكون هناك تكاثر سريع للجرثومة ويرافق هذا التكاثر تدفق كبير للعدلات إلى القنوات اللبنية مع تأذي أو تضرر لقنوات و ظهارة العنيبات اللبنية. تسد القنوات اللبنية بالخلايا والحطامات الخلوية، مسببة التفاف واعوجاج للعنيبات في الفصيصات المصابة ويحدث تليف للنسيج داخل الأسناخ اللبنية، والذي يؤدي أيضاً إلى انخفاض أو نقص الوظيفة الإفرازية لغدة الضرع (Quinn, et al.,1999).

2-6- وبائية التهاب الضرع:

2-6-1- انتشار التهاب الضرع السريري وتحت السريري:

عادة ما يكون الحدوث السنوي لالتهاب الضرع السريري أقل من **5%** وفي بعض القطعان تكون نسبة حدوث التهاب الضرع السريري أعلى وقد تتجاوز 30-50% مسببةً النفوق أو التنسيق حتى 70% من القطيع. وتسبب هذه الجائحات عادةً العنقودية الذهبية والمكورات العقدية أو الممرضات الإنتهازية (Kirk and Glenn.,1996; Calavas et al.,1998; Lafi et al.,1998; Haenlein.,2002)

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

ذكر الباحثون (Forde et al.,2003) في الاستقصاء الحقلي الذي أجروه في الولايات المتحدة الأمريكية لتحديد الانتشار وعوامل الخطورة المرافقة لالتهاب الضرع السريري عند أغنام كلورادو خلال عام 1999 في فصل الحلابة والإرضاع أن متوسط الانتشار بين النعاج المشمولة بالاستقصاء بلغ 6% تقريبا وبلغت نسبة الانتشار عند القطعان الرعوية 11.2% بينما كان عند القطعان المرباة ضمن الحظائر المسيجة 8.4% ، وكانت النسبة العظمى للانتشار عند القطعان المرباة ضمن حظائر وزرائب مغلقة. 68% من حالات التهاب الضرع المبلغ عنها كانت عند النعاج ذات الأعمار 3 –5 سنوات، أما النعاج التي أصيبت سابقاً بالتهاب الضرع فبلغ نسبة انتشار التهاب الضرع لديها 35%.ذكر الباحثون (de la Cruz et al ., 1994) أنه تم تحديد نسبة انتشار التهاب الضرع تحت السريري عند 466 نعجة مانتشجا باسبانيا في فترة الحلابة الثالثة والرابعة، ووجد أن نسبة عالية من غدد الضرع والنعاج (26.8 %، 36.7%) على التوالي أظهرت عدوى جرثومية، عزيت إلى العنقوديات في 83.2% من الحالات ضمن هذا الجنس وبلغ نسبة عزل العنقودية البشروية 66.8%.

توصل الباحثون (La Heras et al ., 1998) في نتائج الدراسة التي أجروها لمعرفة انتشار التهاب الضرع تحت السريري والمنفذة على 22 قطيع أغنام حلوب في منطقة مدريد بإسبانيا أن انتشار التهاب الضرع تحت السريري في قطعان الدراسة تراوح بين 5–67 %. كانت المكورات العنقودية السالبة لأنزيم المخثراز coagulase-negative staphylococci هي أهم الأنواع الجرثومية وأكثرها انتشاراً والتي تسبب التهاب الضرع تحت السريري وتمثل 68 % من العزولات الجرثومية وكان أهم أنواعها العنقودية البشروية (40%) .

تم التقصي عن انتشار وخواص التهابات الضرع تحت ا السريري الوبائية والسببية عند 358 نعجة ضمن 7 قطعان أغنام جنوبي انجلترا من قبل (Watkins et al.,1991)، وبلغ انتشار التهاب الضرع تحت السريري في هذه القطعان 11.7% وبقي انتشار التهاب الضرع خلال فترة الحلابة ثابت نسبياً (5.5–7%). كانت العزولات الجرثومية السائدة والمعزولة من حالات التهاب الضرع تحت السريري هي المكورات العقدية (42%) والمكورات العنقودية السالبة لأنزيم المخثراز (33%) والباستريلة المحللة للدم *Pasteurella haemolytica*(17%)والعنقودية الذهبية *Staph. aureus* (8%) . كانت عزولات المكورات العنقودية السالبة لأنزيم المخثراز سائدة (53%) في العينات التي كانت سلبية لاختبار وايت سايد Wite side test، وزاد انتشار التهاب الضرع تحت السريري مع تقدم عمر النعجة ولكنه لم يتأثر بوجود الآفات المرضية في الحلمة. وكان هناك ارتباط معنوي بين حدوث التهاب الضرع السريري وتحت السريري (26 غدة ضرع) حيث أن التهاب

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الضرع السريري سبقه التهاب الضرع تحت السريري وكانت المسببات الجرثومية هي نفسها في كلا الشكلين.

2-6-2- مصادر العدوى بمسببات التهاب الضرع وخصوصا المسببات المعدية:

تتواجد العنقودية الذهبية في آفات الضرع وفي الجلد وفي الاغشية المخاطية، بينما العقدية الاجلكتية تتواجد داخل الضرع في قنوات الحليب وتأتي الإصابة بالتهاب الضرع من أحد المصدرين فالمسببات البيئية (الاشريكية القولونية وغيرها من القولونيات) تأتي من البيئة المحيطة بالحيوان أو من داخل ضرع الحيوانات الأخرى وتشمل المسببات المعدية لالتهاب الضرع (العنقودية الذهبية والعقدية الاجلكتية والمفطورات) وتنتقل عن طريق أدوات الحلابة الملوثة وأيدي الحلابين الملوثة بالمسببات المعدية وتخترق هذه المسببات قناة الحلمة إلى داخل الضرع وتؤسس لنفسها بيئة مناسبة وتتكاثر، كما أن الحيوانات الحاملة لتلك المسببات والحيوانات المصابة بالتهاب الضرع تحت السريري و آفات الضرع والحلمات هي مستودعات أساسية ومهمة للعنقوديات وبشكل خاص العنقودية الذهبية (Radostits et al, 2000) كما يمكن استنبات العنقودية الذهبية والعنقوديات السالبة لأنزيم المخثراز من جلد الحلمات السليم (Burriel.,1997;Scott and Murphy ., 1997). أما الجراثيم الأخرى فلها مصادر حيوانية أساسية أيضا فالعقدية الأجلكتية توجد في فم الحيوانات البالغة والحيوانات الرضيعة وتتواجد في اللوزات وفي الأنف والحنجرة (Scott and Jones, 1998). كما يمكن للعقدية الأجلكتية أن تتواجد على جلد الحلمات مباشرة بعد الولادة وفي بيئة الحيوانات المريضة (Radostits et al ., 2000). ومن المصادر الرئيسية للمكورات العنقودية ضروع الحيوانات المصابة بالتهاب الضرع السريري (الإصابة المزمنة) أو المصابة بالتهاب الضرع تحت السريري، والحلمات المصابة بالأضرار أو بالآفات الفيروسية (الاكثيمة المعدية) ومع ذلك فان العنقوديات بما فيها العنقودية الذهبية محمولة على جلد الحلمات السليم (بدون وجود آفات أو أضرار) مع انتشار متغاير أو متباين لهذه المسببات بين القطعان (Scott and Murphy ,1997).

توجد الإمعائيات والمكورات المعوية والزوائف في بيئة الحيوان وتوجد بشكل أساسي في فرشة الحيوان (وخصوصا فرشة القش)، أما الزائفة الزنجارية فتتواجد في المياه، كما أن المانهيميا المحللة للدم *Manheimia haemolytica* تتواجد بشكل طبيعي في القناه التنفسية العليا (البلعوم الأنفي واللوزات) لكنها يمكن أن تبقى على قيد الحياة في البيئة المحيطة بالحيوان (Zilugaetal.,1998) وتنتقل أثناء رضاعة الحيوانات الرضيعة لأمهاتها وخصوصاً عندما تكون الحملان مصابة بالباستريلة. إن الرشاشية الدخناء والفطور الأخرى هي عوامل بيئية توجد في العلف المتعفن والفرشة الرطبة والقش والهواء. وأخيراً فإن العقدية

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

ايبرس والأركانوبكتريوم المقيحة Arcanobacterium pyogenes موجودة في كل من الحيوان المصاب وبيئته (وخصوصا القش) (Ziluga et al.,1998 ; Burriel.,1998).

2-6-3- العوامل المهيئة:

لم يتم التقصي عن العوامل المهيئة لدخول الجراثيم إلى داخل قناة الحلمة ومن هناك إلى داخل غدة الضرع كما يجب عند الأغنام بالمقارنة مع الأبقار. إن أهم العوامل المهيئة المقترحة لدخول العامل المسبب إلى داخل قناة الحلمة هي العيوب التشريحية للحلمات والرضاعة العشوائية والتي تكون شائعة عند النعاج والحملان المرباة معاً داخل الحظائر، الآفات الجلدية للحلمات (وجود الآفات الناتجة عن الإصابة الفيروسية مثل الأكثيما المعدية، العضات والتأكلات الناتجة عن الرضاعة العنيفة). كما تعتبر الإدارة السيئة وعدم تطبيق إجرءات النظافة والصحة العامة من أهم العوامل المهيئة لدخول المسببات المرضية المحدثة لالتهاب الضرع، وكذلك وجود عيوب بآلات الحلابة كل هذه العوامل تهيئ لحدوث التهاب الضرع خصوصاً التهاب الضرع بالعنقوديات.

يتراجع التهاب الضرع المسبب بأنواع جنس المانهيميا *Mannheimia* spp بسرعة في قطعان الأغنام الحلوب عندما تبعد أو ترحل الحملان عن أمهاتها وهذا مؤشر على أن المصدر الرئيسي للمانهيميا (الباستريلة) هو فم الحملان الرضيعة. كما تؤدي الكثافة العالية لقطعان الأغنام المرباة ضمن الحظائر (أقل من 2 متر مربع لكل نعجة) الى زيادة تعداد الخلايا الجسمية وزيادة حدوث التهاب الضرع تحت السريري بالإضافة إلى انخفاض إنتاج الحليب وانخفاض محتواه من الدهن والبروتين(Sevi et al ., 1999).

2-6-4-عوامل بقاء الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع:

إن استمرار الإصابة بالتهاب الضرع يكون بسبب غياب إجراءات الكشف المبكر لالتهاب الضرع والمتضمن فحص الضرع باللمس وإجراء اختبار كاليفورنيا (CMT) وعدم التطبيق المنتظم لبرامج السيطرة والتحكم بالتهاب الضرع مثل تعقيم الحلمات، المعالجة بالصادات، التنسيق والذبح. إن العلاقة بين إصابات الحلمة وحدوث التهاب الضرع قد أشير إليها من قبل (Ameh et al ,. 1999) كما أن استمرار وبقاء الجراثيم خارج الضرع يكون أولاً بسبب الفشل الصحي أو التقني فيما يتعلق بآلات الحلابة أو تطهير آلات الحلابة بطريقة غير سليمة، ثانياً الكثافة العالية لعدد الحيوانات في القطيع وخصوصاً في القطعان المرباة بشكل مكثف أو خلال فترة الرضاعة والتي قد ينتج عنها تراكيز مرتفعة للأحياء الدقيقة بهواء الحظيرة مثل القولونيات، الأحياء الدقيقة أليفة الحرارة المعتدلة Mesophilic والعنقوديات.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

من المحتمل ارتباط هذه التأثيرات بالتهوية الخاطئة والرطوبة النسبية العالية بالحظائر. وإن تكاثر الجراثيم المختلفة على الجلد وفي الفرشة يمكن أن يعزز الإصابة بالتهاب الضرع فيما بعد (Sevi et al ., 1999;Sevi et al .,2001;Albenzio et al,2002).

2-6-5- عوامل الخطورة المرافقة لالتهاب الضرع:

إن عوامل الخطورة مرتبطة بتطور حالات التهاب الضرع وبنسبةات حدوثه عند قطعان الأغنام ولم تعرف هذه العوامل بشكل جيد عند الأغنام بالمقارنة مع الأبقار وعوامل الخطورة المقترحة عند الأغنام هي أضرار الحلمة والغدة اللبنية، الشكل التشريحي للضرع الذي يهيئ لتلوث حلمة الضرع، عمر النعجة، التربية المكثفة للأغنام، طول فترة الجفاف التي تدوم 60 يوم، عدد الحملان المولودة لكل نعجة حيث أن زيادة عدد المواليد يساهم في حدوث التهاب الضرع وذلك بسبب الرضاعة المتكررة والقاسية من الحملان، عدم تطبيق اجرءات النظافة والصحة العامة، الإجراءات الإدارية و الصحية السيئة (Jones and Watkins, 2000; Menzies and Ramanoon, 2001).

2-6-6- دور المسببات المعدية وغيرها في حدوث التهاب الضرع:

ذكر (Ebrahimi et al.,2007) في نتائج الدراسة التي أجروها في إيران على 400 عينة حليب مأخوذة من نعاج سليمة ظاهريا في منطقة شيركولد أن 19 عينة كانت ايجابية لاختبار كاليفورنيا (4.75%) من أصل 400 عينة وأهم الجراثيم المعزولة كانت المفطورات وعزلت من 9 عينات(47.37%) ، العنقودية الذهبية وعزلت من 2 عينة (10.5%)، 7 عزولات عنقوديات سالبة لأنزيم المخثراز(CNS)(36.8%)، وعزلت العقديات من عينتين (10.5%) والباستريلة من عينة واحدة (5.26%).

أشار (Mørk et al., 2007) في الدراسة التي أجروها في النرويج أن أهم الأحياء الدقيقة المعزولة من 547 نعجة مصابة بالتهاب الضرع السريري هي العنقودية الذهبية حيث عزلت بنسبة 65.3% والعنقوديات السالبة لأنزيم المخثراز(CNS) عزلت بنسبة 2.9% والإمعائيات وبشكل أساسي الاشريكية القولونية بنسبة 7.3%، وأنواع جنس المكورات العقدية(4.6%)، الباستريلة المحللة للدم (1.8%) وجراثيم أخرى بنسبة 4.9 % من العينات بينما 13.2 % من العينات كانت سالبة للزرع الجرثومي. كما ذكر حاغور والياسينو (1998) في الدراسة التي أجروها لمعرفة انتشار التهابات الضرع في الأغنام في محافظتي حلب وحماه أن أهم المسببات الجرثومية المعزولة من الأغنام المصابة بالتهاب الضرع السريري كانت العنقودية الذهبية(28.13 %)، العنقودية الجلدية (9.4%) ، العقدية البرازية (4.11%)، العقدية ايبرس (2.08%)، الباستريلة محللة الدم (13.53%)، الاشريكية القولونية

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

(5.21%)، الشعية المقيحة(11.46%) والعصيات الشمعية (7.3%). أما الباحث (Fthenakis.,1994) فذكر في الاستقصاء الحقلي عن التهاب الضرع عند الأغنام الذي أجراه جنوبي اليونان أن انتشار التهاب الضرع تحت السريري بلغ 4,5 % وأهم الجراثيم المعزولة من عينات حليب النعاج المصابة هي المكورات العنقودية السالبة لأنزيم المخثراز وأهمها العنقودية البشروية و العنقودية كروموجينيس و العنقودية اكسيلوس و العنقودية سيمولانس ومن المسببات الأخرى التي تم عزلها العنقودية الذهبية، المكورات العقدية، أنواع جنس العصيات Bacillus spp، الاشريكية القولونية، الباستريلة المحللة للدم و الشعية المقيحة ولكن بنسبة أقل. وجد (Kirk et al.,1996) في دراستهم التي أجروها في كاليفورنيا أن المكورات العنقودية السالبة لأنزيم المخثراز تشكل 89% من مجموع العزولات الجرثومية لعينات الحليب المأخوذة من نعاج مصابة بالتهاب الضرع تحت السريري. وفي دراسة أجريت في الأردن في وادي دوليل، فقد كانت العنقودية الذهبية هي أكثر الأنواع الجرثومية المسببة لالتهاب الضرع عند الأغنام حيث عزلت بنسبة 50% ويليها العقدية القاطعة للإدرار(26.7%)، الاشريكية القولونية(16.7%) والزائفة الزنجارية (6.6%) (Shawkat et al.,1998). ومن خلال الدراسة الوبائية التي أجراها (Lafi et al.,1998) على أغنام العواس شمال الأردن فقد وجدوا أن المكورات العنقودية السالبة لأنزيم المخثراز هي الجراثيم المعزولة الأكثر شيوعا من حالات التهاب الضرع تحت السريري، حيث عزلت بنسبة 17.8% تلتها الاشريكية القولونية (13.6%) والمكورات العقدية والعنقودية الذهبية حيث عزلت كلاً منها بنسبة 6.8%. وجد (Al-Majali and Jawabreh., 2003) في الدراسة التي أجروها في الأردن أن نسبة انتشار التهاب الضرع تحت السريري عند النعاج وتحديد المسببات الجرثومية للإلتهاب أن نسبة انتشار التهاب الضرع تحت السريري بلغت 18.3% وأن أهم المسببات الجرثومية المعزولة من عينات حليب النعاج المصابة هي العنقودية الذهبية وعزلت بنسبة 39% بينما عزلت المكورات العقدية بنسبة 25% والإشريكية القولونية بنسبة 19.6% والمكورات العنقودية السالبة لأنزيم المخثراز بنسبة 17.9%. ذكر (Adwan.,2005) في نتائج دراستهم لتحديد المسبب ومدى انتشار التهاب الضرع تحت السريري في الأغنام في شمال فلسطين أن نسبة انتشار التهاب الضرع تحت السريري عند الأغنام هي 72 % وكانت معظم الحالات ناتجة عن الإصابة بجراثيم موجبة الغرام حيث شكلت أنواع المكورات العنقودية حوالي 68,2 % من العزولات الجرثومية وهي الأنواع السائدة من الجراثيم كمسبب لالتهاب الضرع تحت السريري، وعزلت كلا من المكورات العنقودية الايجابية لأنزيم المخثراز بنسبة 32,7% والمكورات العنقودية السالبة لأنزيم

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المختراز بنسبة 35,6 %ومن أهم الأنواع الجرثومية المعزولة المكورات العنقودية الذهبية (42.5 %) والمكورات العنقودية البشروية (30%).

2-7- مقاومة وتحسس الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع للصادات :

الصادات عبارة عن مواد كيمياوية لها القدرة على قتل أو تثبيط نمو الأحياء المجهرية وقسم من هذه المواد إما مصنعة من كائنات حية مثل الفطريات أو مصنعة كيميائيا. وتتسم الصادات بخاصية السمية الانتقائية Selective toxicity أي أنها تكون قادرة على قتل أو تثبيط نمو الأحياء المجهرية دون التأثير على خلايا المضيف الذي تعطى له (Rang et al., 2003). تستخدم الصادات في علاج الأمراض الجرثومية ومن هذه الأمراض مرض التهاب الضرع وقد استخدم طيف واسع من الصادات لهذا الغرض بسبب تنوع الجراثيم التي تسبب المرض وهناك اختلاف كبير بين الدراسات حول الصاداتالمثلى للقضاء على المسببات و من سنة إلى أخرى فان الجراثيم تزيد من قدرتها على مقاومة الصادات فمثلا وجد (Ebrahimi et al.,2007) أن جراثيم العنقوديات السالبة لأنزيم المختراز المعزولة من حالات التهاب ضرع تحت سريري عند الأغنام كانت مقاومة للمضاد الحيوي اميكاسين Amikacin بنسبة 42.8% وللتتراسكلين، اوكسي سيكلين، أمبسلين والبنسلين بنسبة 14.3% وكل عزولات العنقودية الذهبية كانت مقاومة للبنسلين. كما ذكر (Simko and Bartko,1996) في نتائج دراستهما التي أجروها في جمهورية سلوفاكيا على 500 ذرية عنقودية ذهبية معزولة من نعاج مصابة بالتهاب ضرع سريري وتحت سريري أن أعلى مقاومة للمضادات الحيوية في حالة التهاب الضرع السريري كانت للبنسلين والتتراسكلين حيث بلغت 68-69% وللكانامايسين (8-10%)، انخفضت مقاومتها للصادات بشكل ملحوظ في حالات التهاب الضرع تحت سريري حيث بلغت مقاومتها للبنسلين 30% وزادت مقاومتها للكانامايسين (13%). كما وجد (Pengov and Ceru,2003) في دراسة اختبار التحسس للمضادات الحيوية و التي أجراها على 16 عزلة عنقودية ذهبية معزولة من الأغنام ، 92 عزلة عنقودية ذهبية معزولة من الأبقار مصابة بالتهاب الضرع أن 65.2% من الذراري كانت حساسة للبنسلين ، 93.5 % منها كانت حساسة للكانامايسين وأن مستوى مقاومة الذراري الغنمية للصادات الحيوية هي أقل من الذراري البقرية.

توصل الباحثون (Stefano et al.,2008) في نتائج دراستهم التي أجروها في ايطاليا في الفترة 1995-2004 لتقييم مقاومة الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع بشكليه السريري وتحت السريري للمضادات الحيوية إلى أن مقاومة ذراري العنقوديات للبنسلين أقل من تلك المخبر عنها (نسبة مقاومة ذراري العنقودية الذهبية 4.1% ومقاومة ذراري العنقوديات السالبة لأنزيم

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المختراز15.3%)، والنسبة الأعلى لمقاومة الجراثيم لوحظت للأمينوجلوكسيدات، فكانت مقاومة العقدية ايبرس للكانامايسين 84.5% وللاستربتومايسين 92.5% و مقاومة العنقودية الذهبية للكانامايسين 14.6% وللستربتومايسين 63.3%، إن مقاومة الصادات من قبل الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع عند الأغنام بشكل عام هي أقل مما هي عند الأبقار.

ذكر (Iqbal et al.,2004) في الدراسة التي أجروها في باكستان على عينات حليب مأخوذة من الأبقار والجاموس والأغنام والماعز لمعرفة الصادات الأكثر فعالية في معالجة التهاب الضرع أنّ الجنتامايسين، الانروفلوكساسين، نوروفلوكساسين، الكانامايسين هي الصادات الأكثر فعالية من بين 12 صاد مستعمل في اختبار حساسية الجراثيم للصادات. كما وجد (Antunes et al ,2008) في دراسة حساسية ذراري المفطورة الأجلكتية الحقلية للصادات الحيوية أن ذريتين منها كانت مقاومة للتتراسكلين، وكانت جميع الذراري مقاومة للاستربتومايسين، الاريثرومايسين وحمض النالديكسيك.

كما توصل الباحث (Fthenakis.,1998) في نتائج الدراسة التي أجراها في اليونان لمعرفة مدى حساسية بعض أنواع المكورات العنقودية المعزولة من حالات التهاب الضرع السريري وتحت السريري عند الأبقار والأغنام إلى أن 172 عزولة والمتضمنة العنقودية الذهبية (78عزولة)،العنقودية الصباغية(6عزلات)، العنقودية البشروية (37 عزلة)، العنقودية سيمولانس(34عزلة)، العنقودية زيلوس(17عزلة) كانت كلها حساسة(100%) لــ سيفوبرازون cefoperazone، cefuroxime، cloxacilli، enrofloxacin و methicillin، 159 عزلة(92%) حساسة لــ clindamycin، 135 عزولة(78%) حساسة لــ tetracycline، 129 عزولة(75%) حساسةلــneomycin، 125(73%) حساسة لــ erythromycin، 109عزولة(63%)حساسة لــ gentamicin و102(59%) حساسة لــampicillin and penicillin-G.

2-8-الوقاية والتحكم بالتهاب الضرع:

الصفة المشتركة للمسببات المعدية هي قدرتها على الغزو والنمو على جلد الحلمة وداخل قناة الحلمة، هذه القدرة ربما تساهم في طبيعتها المعدية وعملية انتقال العدوى بين أنصاف الضروع المصابة وغير المصابة وحتى بين الحيوانات المصابة وغير المصابة مما يؤدي إلى ضعف طرق التحكم والسيطرة بمسببات التهاب الضرع المعدي (Bramley and Dodd.,1984; Fox and Gay.,1993) ، لذلك فإن طرق التحكم والسيطرة بالتهاب الضرع يجب أن تركز على تقليل تعرض نهايات الحلمات للعوامل الممرضة المعدية كما يجب التركيز على عاملين هامين من عوامل السيطرة وهما :

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

تقليل أو خفض انتشار أو انتقال المسببات المعدية من نعجة إلى أخرى خلال عملية الحلابة وتقليل أو استبعاد مستودعات أو مخازن العدوى من القطعان الحلوب، وكذلك اتخاذ الإجراءات الصحية الصارمة أثناء عملية الحلابة مع التغطيس الفعال للحلمات بالمطهرات لمنع انتشار المسببات المعدية بين الحيوانات الحلوب. يمكن خفض أو تقليل مستودعات المسببات المعدية بنجاح من خلال علاج الأغنام الجافة، تنسيق واستبعاد الأغنام المصابة بهذه المسببات وبدرجة أقل من خلال علاج الحالات السريرية أثناء عملية الحلابة (Fox and Gay.,1993).لا ريب أن التنسيق هو أساسي للسيطرة والتحكم بالتهاب الضرع المسبب بالمفطورات ويمكن أن يلعب دور رئيسي لتقليل أو تخفيض النعاج المصابة بالعنقودية الذهبية. قد تبدو معالجة الإصابات أثناء فترة الإدرار وسيلة فعالة لتقليل وخفض مستودعات العدوى للمكورات العقدية الأجلكتية، لكن غير منصوح بها بالنسبة للمكورات العنقودية الذهبية وعديمة القيمة بالنسبة للإصابة بأنواع المفطورات. بينما المعالجة بالصادات أثناء فترة الإدرار قد تستعمل وتطبق بنجاح في حالة الإصابة بالتهاب الضرع المسبب بالعقدية الاجلكتية. إن المعالجة خلال فترة الرضاعة والإدرار تكون منخفضة القيمة في حالة الإصابة بالعنقودية الذهبية بسبب أن نسبةات الشفاء عموما تبلغ 35% فقط (Bramley et al.,1984; Fox and Gay.,1993). كما يمكن أن تتحقق السيطرة على التهاب الضرع المعدي من خلال النقاط التالية:

1-الوقاية: لا تكون بالمعالجة أثناء فترة الحلابة والإدرار وإنما بمنع الإصابة الجديدة وهي المفتاح لنجاح برنامج السيطرة والتحكم بالتهاب الضرع المعدي (DeGraves and Fetrow., 1993; Radostits et al.,1994).

2-الإجراءات الصحية وقت الحلابة:إن الإجراءات الصحية والنظافة الجيدة وقت الحلابة ضرورية لسيطرة والتحكم بالتهاب الضرع المعدي وتقلل من تأثير التهاب الضرع البيئي (Pankey,1989; Fox and Gay.,1993). ينبغي أن يكون الضرع نظيف وكذلك حلمة الضرع ينبغي أن تكون نظيفة وجافة عندما توصل بأكواب الحلابة (في حال الحلابة الآلية)، تجنب الاستعمال المشترك للمناشف وقطع القماش والأسفنجات بين الحيوانات الحلوب، إن تغطيس الحلمات قبل الحلابة بمحلول مطهر قاتل للجراثيم هي طريقة فعالة للتحضير لعملية الحلابة وسوف تساعد للوقاية من التهاب الضرع بالممرضات البيئية عند بعض القطعان(Pankey,1989)، يجب جز وقص الصوف أو الشعر المحيط بالضرع للتقليل من تلوث الضرع والحلمات.

3- تغطيس الحلمات بعد الحلابة: إن تغطيس الحلمات بمحلول مطهر قاتل للجراثيم ضروري للوقاية والتحكم بالتهاب الضرع المسبب بالعضويات المعدية (العنقودية الذهبية والعقدية

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الاجلكتية) ويمنع حدوث إصابات جديدة (Bramley et al.,1984; Fox and Gay.,1993).

4-البيئة: إن البيئة هي المصدر الرئيسي للممرضات البيئية في الحظائر حيث تعيش الحيوانات الحلوب ويجب أن تكون البيئة التي تعيش فيها الأغنام الحلوب نظيفة ، جافة ومريحة(Gonzales et al.,1989; Hogan et al.,1989;Hogan et al.,1992).

5-التغذية: التغذية لها أثر كبير على مقاومة الحيوانات الحلوب لالتهاب الضرع، فالفيتامينات والمعادن وخصوصا فيتامين هـــ وعنصر السيلنيوم يمكنهما تنشيط المناعة ويؤدي انخفاضهما إلى مناعة متدنية لدى الحيوانات الحلوب مما يؤهب لحدوث التهاب ضرع عند هذه الحيوانات (Erskine et al ,1987; Hogan et al .,1992, Erskin.,1993).

6- علاج التهاب الضرع السريري: يساهم العلاج مساهمة قليلة جدا في التحكم والسيطرة بالتهاب الضرع عند القطعان الحلوب، والسبب في ذلك هو أن المعالجة لا تمنع تعرض الحلمات غير المصابة للممرضات المحتملة ولا تحسن من مقاومة الحيوانات الحلوب للعدوى. إن الصادات الشائعة الاستعمال عند الحيوانات الحلوب لها نسب فعالية مختلفة حسب نوع المسبب (Smith., 1983; Bramley et al.,1984).

7- التنسيق والاستبعاد: إن التنسيق هو عنصر فعال في برامج السيطرة والتحكم بالتهاب الضرع وطريقة فعَالة للغاية للتحكم بالتهاب الضرع المعدي (Fox and Gay.,1993).

8- مراقبة برامج التحكم بالتهاب الضرع: إن مراقبة التهاب الضرع أساسية لمعرفة ما إذا كان برنامج السيطرة والتحكم بالتهاب الضرع فعَال أو بحاجة إلى تقويم . إجراء اختبار كاليفورنيا أو تعداد الخلايا الجسمية ضروري لكشف التهاب الضرع تحت السريري ومعالجته وبالتالي تفادي الأضرار اللاحقة التي قد تنجم مثل التهاب الضرع السريري. (Fox and Gay.,1993)

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الفصل الثالث

3- المواد وطرائق البحث

MATERIAL AND METHODS

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-المواد وطرائق البحث:

3-1-المواد:

3-1-1 العينات: جمعت 660 عينة حليب من نعاج تابعة لقطعان مختلفة موزعة في ريف حماة وحمص وقطعان تابعة لمحطات البحوث في حمص وحماة في الفترة الممتدة بين كانون أول 2007 وحزيران 2008 وكانت العينات المجموعة مأخوذة من نعاج مصابة سريرياً بالتهاب الضرع ومن نعاج سليمة ظاهرياً ويوضح الجدول التالي عدد العينات وأماكن جمعها وحالة التهاب الضرع الظاهرية.

الجدول (1) عدد العينات المدروسة

المنطقة	عدد القطعان	العدد الكلي للأغنام الحلوب	عدد العينات السريرية	عدد العينات السليمة ظاهرياً
ريف حماة	16	1900	50	163
ريف حمص	13	1400	32	159
قطعان المحطات	11	1500	13	243
المجموع	40	4800	95	565

3-1-2-البيانات:

تم اختيار قطعان الأغنام بشكل عشوائي موزعة في مناطق مختلفة من ريف محافظة حماة وحمص بالإضافة إلى قطعان محطات البحوث في حمص وحماة، وبلغ عدد القطعان المشمولة بالدراسة حوالي 40 قطيع ومتوسط عدد الأغنام بكل قطيع 120 نعجة حلوب وكانت معظم القطعان الرعوية تتبع نظام التربية السرحية التي تعتمد على المرعى،نظام الحلابة التقليدية (الحلابة اليدوية)، أما قطعان المحطات فكان نظام التربية فيها شبه مكثف يعتمد على التغذية المركزة بالإضافة الى الرعي ونظام الحلابة المتبع معظمه يدوي ،وأثناء زيارة هذه القطعان تم أخذ العينات من النعاج المصابة بالتهاب الضرع الإكلينيكي وعينات من النعاج السليمة ظاهرياً.

جمعت البيانات من خلال ملء استمارة الاستبيان التي تتضمن معلومات عن المنطقة، صاحب القطيع، حجم القطيع، عدد النعاج الحلوب بالقطيع، عدد النعاج المصابة بالتهاب الضرع، عمر كل نعجة مصابة بالتهاب الضرع وعمر كل نعجة تم أخذ العينة منها ،الخ............. وجميع المعلومات التي جمعت عن قطعان الدراسة موضحة باستمارة الاستبيان التالية:

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

نموذج الاستبيان لقطعان الدراسة
المحافظة
صاحب القطيع ---------------- البلد ---------------------- المنطقة --------------------
1 ما هو حجم القطيع ؟ --------------------
2 ما هو عدد المواليد في القطيع ؟ ---------------------
3 ما هو نظام التربية للقطيع ؟
أ. مزرعة مغلقة ☐مفتوحة ☐نصف مغلقة ☐رعي متنقل
4- هل تقوم بتغذية القطعان بصورة جيدة ؟ ☐نعم ☐ لا
5– هل يوجد ازدحام في أماكن تربية الأغنام ؟ ☐ نعم ☐ لا
6-ماهو نظام الحلابة ؟ ☐آلي ☐ يدوي
7-ماهو عمر النعجة المصابة؟................................
8- كمية الحليب المنتجة اليومية و خلال موسم الحلابة؟........................
9- هل تقوم المواليد برضاعة أمهاتها بشكل دوري؟ ☐ نعم ☐ لا
10- هل أصيبت الحملان أو أمهاتها بداء الباستريلات أو المايكوبلازما؟ ☐ نعم ☐ لا
11-هل يتم تأخير حلابة النعاج لفترات طويلة؟ ☐ نعم ☐ لا
12-هل تقوم بعملية جز الصوف للأغنام ؟ ☐ نعم ☐ لا
13-هل يتم تنظيف وتعقيم الحظائر بشكل دوري؟ ☐ نعم ☐ لا
14-هل يتم غسل وتعقيم الحلمات قبل وبعد الحلابة؟ ☐ نعم ☐ لا
15- هل يتم غسل وتعقيم يد الحلاب قبل الحلابة وبعدها؟ ☐ نعم ☐ لا
16- هل أصيب الضرع بجروح نتيجة الأدوات الحادة ؟ ☐ نعم ☐ لا
17- هل سبق لنعجة ان أصيبت بآفات جلدية نتيجة مرض جلدي أو خراجات؟☐ نعم ☐ لا
18-هل تعالج النعاج المصابة بالتهاب الضرع فور اكتشاف الإصابة؟ ☐ نعم ☐ لا
19- هل يتم تلقيح الأغنام ضد الأمراض السارية؟ ☐نعم ☐ لا
20- هل تعزل النعاج المصابة ويتم التخلص من حليبها؟ ☐ نعم ☐ لا
21- هل سبق للنعجة أن أصيبت بالتهاب الضرع؟ ☐ نعم ☐ لا
22-هل انتقل التهاب الضرع من نعجة لأخرى؟ ☐ نعم ☐ لا
23- هل يتم فحص النعاج سريريا أو بالاختبار الحقلي السريع بشكل دوري؟ ☐ نعم ☐ لا
24- ماهي أهم الأعراض المشاهدة على النعجة المصابة بالتهاب الضرع؟......................... ....
25- هل يوجد تغير بخواص وقوام الحليب؟ ☐ نعم ☐ لا

3-1-3- الأصباغ المستعملة: وقد تم استخدامها لدراسة شكلياء الجراثيم

3-1-3-1- صبغة غرام Gram's stain

وهي صبغة تستعمل لمعرفة شكل الجراثيم وتفاعلها الصباغي سواء كانت ايجابية أو سالبة لصبغة غرام وتم تحضيرها حسب (Quinn et al.,1999) .

3-1-3-2- صبغة أزرق الميثيلين القاعدي (للوفلر)Methylene blue stain

استعملت هذه الصبغة للتعرف على الجراثيم ثنائية القطب مثل جنس الباستريلة (Pasteurella) وتحضير شرائح من مستوى راسب الحليب بعد التثفيل لمشاهدة سلاسل العقدية القاطعة للادرار.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3 -1-4- الأوساط الزرعية:

3-1-4-1-الأوساط والمواد الخاصة بعزل وتمييز المفطورات:

3-1-4-1-1- مرق المايكوبلازما (PPLO broth) والمنتج من قبل شركة Himedia

3-1-4-1-2- آغار المايكوبلازما(PPLO agar) والمنتج من قبل شركة Oxoid الانكليزية. وتم تحضيره تبعاً لتعليمات الشركة المنتجة وتم التعقيم بالموصدة لمدة 15 دقيقة.

- المواد المضافة لأوساط المايكوبلازما: تم تحضير محاليل المواد وفقاً لــ (National mastitis council (NMC),2005):

3-1-4-1-3-مصل دم الحصان: انتاج شركة سيجما وتم إضافته للوسط بنسبة 20%.

3-1-4-1-4- DNA (Himedia) تم تحضير محلول منه باذابة 0.2 غ منDNA في 100 مل ماء مقطر منزوع الشوارد. وتم توزيع المحلول على أنابيب زجاجية معقمة سعة 5مل عقمت بالموصدة عند درجة 121م° وتحت ضغط 150 باوند ولمدة 15 دقيقة. حفظت الأنابيب بعد ذلك في المجمدة عند درجة (C 70- to 30-).

3-1-4-1-5- خلات الثاليوم (سيجما): تم تحضير محلول خلات الثاليوم باذابة 1 غ من خلات الثاليوم في 100 مل ماء مقطر منزوع الشوارد. تم تمرير المحلول بمرشحات معقمة تستخدم لمرة واحدة ذات أقطار 22µm. ووزعت كميات بمقدار 10 ml في أنابيب معقمة وحفظت في المجمدة عند درجة (C 70- to 30-).

3-1-4-1-6- خلاصة الخميرة: من إنتاج شركة(هايميديا الهندية). تم تحضير محلول من خلاصة الخميرة بنسبة 50% وتم تعقيم المحلول بالمرشحات الجرثومية.

3-1-4-1-7- محلول البنسلين: تم تحضيره باذابة 5 مليون وحدة دولية IU من بنسلين G في 25 مل ماء مقطر منزوع الشوارد. وتم تعقيم المحلول بمرشحات ذات أقطار 0.22µ m ووزع في أنابيب معقمة بكميات 2 مل وحفظت بالتبريد العميق عند (C 70- to 30-).

-تحضير الأوساط وإضافة المواد الضرورية لنمو المايكوبلازما:

الوسط السائل PPLO broth: تم تذويب 21 غ من وسط مرق المايكوبلازما في 700 مل من الماء المقطر وتم غلي المزيج، بعد ذلك تم التعقيم بالموصدة عند درجة حرارة 121 مْ وضغط 150 باوند ولمدة 15 دقيقة،بعد تبريد الوسط عند درجة 50 مْ أضيف 200مل مصل دم الحصان و100 مل من محلول خلاصة الخميرة المحضرة حديثا (50%)، 20مل محلول DNA (0.2%)، 25 مل محلول جلوكوز(50%)، 20مل محلول خلات الثاليوم(1%)، 10 مل محلول بنسلين G ، 12.5 مل من محلول كاشف أحمر الفينول (0.2%)، ضبط PH الوسط عند 7.6و- 7.8 ووزع في أنابيب معقمة.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

-طريقة تحضير الوسط الصلب **PPLO agar :**

تم تحضيره بإذابة 32 غ من الوسط في 700 مل ماء مقطر بالغليان ومن ثم التعقيم بالموصدة وبعد تبريد الوسط الى الدرجة 50 مْ تم إضافة 200 مل مصل دم الحصان و100 مل من محلول الخميرة المحضرة حديثا (50%)، 20 مل محلول DNA (0.2%)، 20 مل محلول خلات الثاليوم (1%)، 10 مل بنسلين G محضر حسب National milk council (2005,) ضبط PH الوسط عند 7.6 – 7.8 وتم صب الوسط في أطباق بتري معقمة.

3-1-4-2- مواد الاختبارات الكيمياحيوية الخاصة بالمفطورات (البيوكيميائية):

وتتضمن الغلوكوز، فينول فثالين ثنائي فوسفات الصوديوم، الأرجنين، اليوريا (Himedia).

3-1-4-3- الأوساط والمواد المستخدمة في عزل وتحديد الجراثيم الأخرى المسببة لالتهاب الضرع(جميع الأوساط من انتاج شركة Himedia الهندية):

3-1-4-3-1- وسط أساس الأجار المدمى blood agar base medium:

وتم تحضيره تبعا لتعليمات الشركة المنتجة. وتم إضافة 5% دم أغنام منزوع الفيبرين وذلك بعد التعقيم والتبريد لدرجة حرارة 50 مْ. ومن ثم صب الوسط في أطباق بتري معقمة، واستخدم الوسط باعتباره وسط عام للزرع الجرثومي ومن أجل الكشف عن مقدرة الجراثيم على تحليل كريات الدم الحمراء بالإضافة إلى دراسة الخواص الشكلية للمستعمرات النامية.

3-1-4-3-2- وسط أجار الماكونكي MacConky's agar medium:

استخدم لنمو وتمييز عائلة الجراثيم المعوية وبعض الجراثيم السالبة لصبغة غرام ودراسة الخواص الشكلية للمستعمرات النامية.

3-1-4-3-3-وسط الآجار المغذي Nutrient agar medium

استخدم من اجل الحصول على مستعمرات نقية ومن اجل الكشف عن الجراثيم التي تنتج الصبغة مثل العنقودية الذهبية التي تنتج الصبغة الذهبية أو الصفراء.

3-1-4-3-4- وسط شوربة الصويا المهضومة Tryptic soy broth(Merk)

استخدم هذا الوسط من اجل تنشيط الجراثيم لاستخدامها في الاختبارات اللاحقة وحضر الوسط حسب تعليمات الشركة.

3-1-4-3-5- مرق الببتون: واستخدم الوسط في اختبار تخمير السكاكر.

3-1-4-3-6-وسط أجار موللر هنتون: Muller Hinton Agar

تم تحضير هذا الوسط حسب تعليمات الشركة وهو وسط خاص باختبارات فحص الحساسية للمضادات الحيوية.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3–1–4–3–7– وسط آغار المانتول المالح Manitol salt agar

وسط انتقائي لزرع جراثيم المكورات العنقودية والمكورات الدقيقة، ويحتوي هذا الوسط على نسبة عالية من كلوريد الصوديوم(7.5–10 %) والذي يثبط نمو الجراثيم الأخرى كما يحتوى على كاشف أحمر الفينول الذي يتغير إلى اللون الأصفر عند نمو جراثيم العنقودية الذهبية المخمرة لسكر المانتول.

3–1–4–3–8– وسط ادوارد: Edward's medium

حضر هذا الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة وأضيف له دم الأغنام بنسبة 10%. استخدم من أجل عزل وتمييز مستعمرات المكورات العقدية وملاحظة تحلل الدم وحلمهة سكرالأسكولين.

3–1–4–3–9–وسط آغار أزرق الميثيلين والأيو زين: Eosine Methylene Blue Agar: تم تحضيره حسب تعليمات الشركة وهو وسط انتقائي وتمييزي للإمعائيات.

3–1–4–3–10– وسط مرق نقيع القلب والدماغ: Brain Heart Infusion Broth

استخدم هذا الوسط لتنمية المكورات العقدية وإجراء اختبار تحليل هيبيورات الصوديوم للتمييز بين أنواع المكورات العقدية.

3–1–4–3–11–وسط أغار ثلاثي السكر والحديد: Triple sugar iron

استخدم هذا الوسط للكشف عن مقدرة الجراثيم على تخمير السكريات (الغلوكوز ،السكروز واللاكتوز) وإنتاج غاز كبريتيد الهيدروجينH_2S.

3–1–4–3–12–وسط أساس اليوريا: Urea base medium

تم تحضيره حسب تعليمات الشركة المنتجة وذلك بإذابة 4.6 غراماً من الوسط في 190 مل ماء مقطر. بعد التعقيم يضاف محلول اليوريا(4%) المعقمة بالترشيح بمقدار 10 مل .استخدم هذا الوسط في اختبار الكشف عن وجود انظيم اليوريز Urease .

3–1–4–3–13–وسط الأكسدة والتخمير (OF) Oxidation and fermentation medium

تم استخدام هذا الوسط في اختبار الأكسدة والتخمير للتمييز بين المكورات العنقودية والمكورات الدقيقة كما استخدم لتمييز جنس الزوائف عن غيرها.

3–1–4–3–14– وسط آغار الدينيز:DNase agar:

استخدم هذا الوسط لاختبار قابلية جراثيم العنقوديات لإنتاج الأنزيم المحلل للدنا.

3–1–4–3–15– وسط السترات لسيمون Simmon' s citrate:

استخدم وسط السترات لسيمون للتعرف على الجراثيم التي تستخدم سترات الصوديوم بوصفها مصدراً وحيداً للطاقة.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-1-4-4-عتيدة الاختبارات الكيمياحيوية لتمييز العنقوديات Histaph™ Identification kit: هذه العتيدة من إنتاج شركة هايميديا. واستخدمت للتمييز بين أنواع المكورات العنقودية.

3-1-4-5-المحاليل والكواشف ومواد الاختبارات الكيمياحيوية:

حضرت بالاعتماد على **(Collee et al., 1996)**

3-1-4-5-1-المحاليل Solutions:

*محلول ملحي فسيولوجي معقم Saline (0.85%) استخدم لتمديد بلازما دم الأرانب في اختبار المخثراز لتمييز العنقوديات الايجابية لأنزيم المخثراز،

*ماءات الصوديوم NaOH (40%) ، استخدمت في اختبار الفوسفاتيز،

*حمض كلور الماء N 1 Hcl عياري، استخدم في اختبار الديناز للكشف عن تحلل الDNA من قبل العنقودية الذهبية ،

*بيروكسيد الهيدروجين H2O2 (3%) استخدم في اختبار الكاتالاز.

*كحول إيتيلي (96 %) وكحول إتيلي ممدد (70 %) ، استخدم في التعقيم أثناء أخذ العينات.

*ماءات البوتاسيوم 30% ، استخدمت ككاشف عن نتيجة اختبار الفوسفاتيز.

3-1-4-5-2- الكواشف: Reagents

- كاشف فينول فثالين ثنائي الفوسفات(**Himedia**) استخدم في اختبار الفوسفاتيز.
- ماءات الأمونيوم 30% واستخدم في اختبار الفوسفاتيز الذي أجري للتمييز بين العنقوديات.
- كاشف اندريد للكشف عن تخمر السكاكر.
- كاشف كلوريد الحديد، وأضيف إلى منبت هيبيورات الصوديوم بعد نمو العقديات على المنبت .
- كواشف A reagents و B reagents جاهزة مع عتيدة الاختبارات البيوكيميائية الخاصة بالعنقوديات **Histaph™ Identification kit** حيث تضاف للحفرة رقم (1) في مسطرة الاختبارات البيوكيميائية للكشف عن نتيجة اختبار فوجس بروسكاور.
- كاشف أحمر الفينول، وأضيف إلى الوسط السائل الخاص بالمفطورات .
- كاشف اختبار كاليفورنيا : استخدم في اختبار الكشف عن التهاب الضرع تحت السريري وهو من انتاج شركة(v,Kruuse,Denmark).
- كاشف كوفاك،و استخدم في اختبار الأندول.
- أقراص اختبار الأوكسيداز **(Himedia)**.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-1-4-6-المواد المستخدمة في الاختبارات الكيمياحيوية وتتضمن:

- السكاكر(المانتول، الغلوكوز، المالتوز، اللاكتوز، السكروز، تريهالوز، سوربتول، انولين، رافينوز، ارابينوز) .
- اليوريا :حضر منها محلول (4%) وعقم بالمرشحات الجرثومية وأضيف إلى وسط أساس اليوريا
- هيبورات الصوديوم: هو عبارة عن ملح(بودر) أبيض اللون يضاف إلى الوسط الخاص باختبار هيبورات الصوديوم (من انتاج شركة ميرك Merk).

3-1-4-7- مصورة دم الأرنب Rabbit plasma :

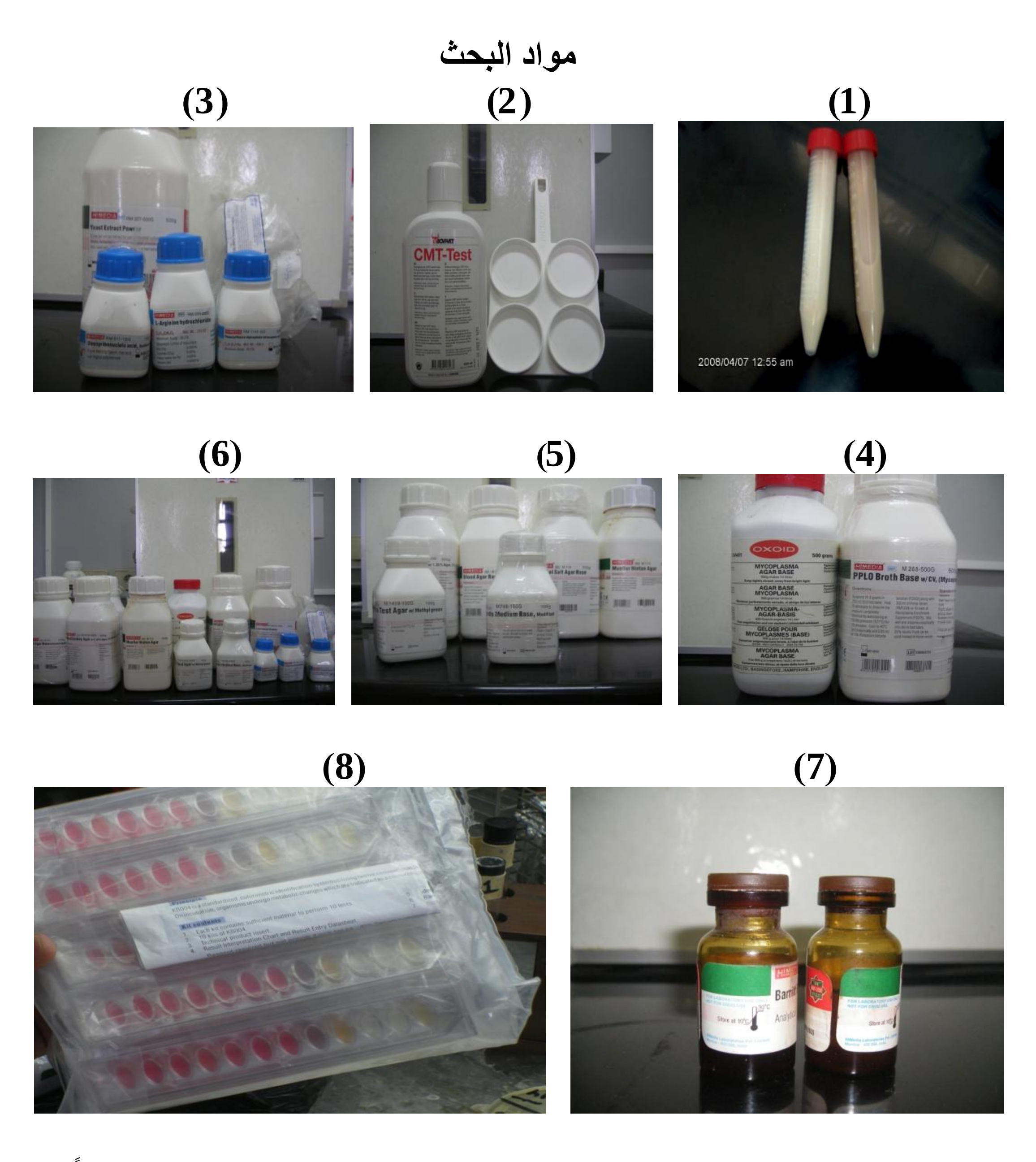
تم تحضيرها حسب(Koneman et al., 1997) وذلك بجمع دم من قلب الأرنب بصورة عقيمة وإضافة مانع تخثر(1 حجم سيترات الصوديوم4% الى 9 أحجام دم أرنب)،بعد ذلك تم تثفيله بسرعة3000دورة/دقيقة لمدة 10دقائق. تم سحب المصورة بمحقن معقم ونقلت إلى أنابيب معقمة.

3-1-4-8-الصادات المستخدمة في اختبار التحسس : واستخدم في هذا الاختبار الصادات الشائعة الاستخدام في الحقل لمعالجة حالات التهاب الضرع عند الاغنام والابقار: البنسلين - الأمبسلين - التتراسكلين - ستربتومايسين -كانامايسين-أنروفلوكساسين-السبيروفلوكساسين- نوفوبيوسين- لينكومايسين- كوليستين- جنتامايسين- نيومايسين-تريموثوبريم وهي من انتاج شركة (**Himedia**).

تبين الصور(1-8) المواد والأوساط المستخدمة في الدراسة .

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

مواد البحث



صورة (1) عينات حليب مأخوذة من نعاج مصابة بالتهاب الضرع ونعاج سليمة ظاهرياً.

صورة (2) كاشف كاليفورنيا والصفيحة الخاصة بإجراء الإختبار.

صورة(3) المواد المضافة لوسط المفطورات ومواد الاختبارات الكمياحيوية(ثاليوم اسيتات، مسحوق دنا، أرجنين ، فينول فثالين ثنائي فوسفات الصوديوم، ديكستروز، خلاصة الخميرة)

صورة(4) الأوساط الخاصة بالمفطورات(PPLO broth, PPLO agar).

صورة(5و6) عبوات الأوساط الزرعية

صورة(7 و 8) الكواشف وعتيدة الاختبارات الكمياحيوية للعنقوديات.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-2-طرائق البحث:

3-2-1-جمع العينات:

تم جمع العينات (5-10مل حليب) من النعاج المصابة بالتهاب الضرع السريري بشروط عقيمة، أما عينات النعاج السليمة ظاهريا فجمعت قبل الحلابة حيث تم تنظيف الضرع ومسحت الحلمات بالكحول الإيثيلي 70%. وبعد استبعاد السحبات الثلاث الأولى تم أخذ 10-15 مل من الحليب في أنابيب معقمة وحفظت في حافظة تحتوي ثلج ونقلت بأسرع وقت إلى مخبر الأحياء الدقيقة في كلية الطب البيطري.

3-2-2-إجراء اختبار كاليفورنيا :

تم إجراء اختبار كاليفورنيا الحقلي على العينات المأخوذة من النعاج السليمة ظاهرياً للكشف عن التهاب الضرع تحت السريري، وتم تقييم نتائج الاختبار حسب (Quinn,et al.,1999): تم إجراء الاختبار بأخذ 2 مل من حليب النعاج السليمة ظاهريا في صفيحة خاصة ووضع عليها 2 مل من الكاشف ومن تم التحريك بلطف لمدة 10 ثوان وتقرأ النتيجة تبعاً لدرجة التجلط أو التخثر كما هو موضح في الجدول رقم 2.

جدول رقم (2): تفسير نتائج اختبار كاليفورنيا

درجة الاختبار	النتيجة	التفاعل المشاهد	تعداد الخلايا الكلي /مل
0	سلبي (-)	بقي الحليب سائل وطبيعي	0-200,000
T	راسب بسيط(0)	راسب ضئيل	150,000-500,000
1	ايجابي ضعيف (+)	تشكل راسب دون تشكل هلام	400,000-1,500000
2	ايجابي(++)	المزيج سميك مع تشكل هلام	800,000-5000,000
3	ايجابي قوي(+++)	الهلام كثيف ومتماسك وملتصق بسطح الصفيحة ودرجة التجلط كبيرة	≥5000,000

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-2-3-الفحص الجرثومي:

3-2-3-1-عزل وتشخيص المفطورات(المايكوبلازما):

3-2-3-1-1-العزل :

تم الزرع حسب(**Bisping and Amtsberg, 1988**)) وذلك بأخذ 0.1 مل من عينة الحليب بعد مجانستها بتحريكها بلطف وفردها على طبق بتري يحوي وسط PPLO agar، أما الزرع على الوسط السائل فأجري بأخذ 0.2 مل من العينة وتلقيحها في الوسط السائل(بأنبوب يحوي 1.8 مل PPLO broth) ومن ثم نقل 0.2 مل من الأنبوب المحقون بالعينة إلى أنبوب آخر يحوي 1.8 مل PPLO broth وحضنت الأنابيب المزروعة بدرجة حرارة 37 مْ هوائياً. أما الأطباق المحقونة بالعينة فوضعت في جرة الزرع اللاهوائي وبوجود الشمعة وأغلقت جرة الزرع ووضعت في الحاضنة بدرجة حرارة37 مْ. فحصت الأنابيب المزروعة بالعينة يومياً لمشاهدة التغير في لون الوسط (تغير لون المشعر) نتيجة تغيرPH ، وفحصت الأطباق بعد 3 أيام و6 أيام و7 و 10 أيام من الزرع تحت المجهرالمجسم Stereoscopic microscope بتكبير 35× لمشاهدة الشكل المميز لمستعمرات المفطورة (شكل البيض المقلي). ثم تم أخذ 0.1 مل من الأنبوب الأول ذو التمديد (10/1) ومن الأنبوب الثاني ذو التمديد (20/1) وحقنت على الوسط الصلب بعد 3 أيام و10 أيام من التحضين الأولي للأنابيب وحضنت الأوساط الصلبة بعد وضعها بجرة الزرع اللاهوائي وبوجود الشمعة ومصدر للرطوبة بنفس شروط التحضين المذكورة مسبقاً وتم فحصها بنفس الطريقة المذكورة أعلاه.

3-2-3-1-2- تنقية المفطورات: تم تنقيتها وفقا لــ (Quinn, et al.,1999) كما يلي:

لما كان من الصعب الحصول على خلايا من المستعمرات النامية بواسطة عروة الزرع الجرثومي لذلك فإن طريقة الحصول على مستعمرات نقية يختلف عن طرق الحصول على مستعمرات نقية للجراثيم الأخرى. وتمت التنقية من خلال أخذ مستعمرة واحدة بعد تحديدها وتعليمها ومن ثم قطع الجزء المحدد من الأغار المحدد والمحتوي على مستعمرة مفردة بمشرط معقم sterile scalpel ونقل الجزء المقطوع بصورة عقيمة إلى أنبوب يحوي 2-3 مل من الوسط السائل PPLO broth وحضنت الأنابيب المزروعة بدرجة 37 مْ لمدة 48 – 72 ساعة، بعد ذلك فحصت الأنابيب. يستدل على نمو المفطورات من خلال تغير لون الوسط المزروع أو مشاهدة عكارة واضحة فيه. يأخذ السائل المزروع بعد ذلك بواسطة محقن معقم ويمرر من خلال مرشحة ذات قطر0.45 µ m إلى أنبوب معقم ومن ثم يتم تخفيف السائل المرشح بإضافة وسط سائل خاص بالمفطورات حديث وطازج بتمديده 10/1 و 20/1. بعد ذلك يؤخذ ملئ لوب عقيم من كل تمديد ويحقن على وسط صلب خاص بالمايكوبلازما كل

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

تمديد على حدى. حضنت الأطباق المزروعة بنفس الشروط والطريقة المذكورة سابقاً. وتم تكرار هذا الإجراء ثلاث مرات.

3-2-3-1-3-التصنيف الكمياحيوي للمفطورات:

بعد الحصول على مستعمرات نقية من المفطورات تم التصنيف الكيمياحيوي حسب Carter). et al,1979; Bisping and Amtsberg **., 1988**; OIE.,2000

وذلك باجراء الاختبارات التالية:

3-2-3-1-3-1- تخمير أو استقلاب الغلوكوز: تم تحضير الوسط السائل الخاص بالمفطورات (PPLO broth) كما سبق شرحه من قبل، وضبط PH الوسط عند 7.5 وتم وضع المستعمرات النقية في الأنبوب المحتوي على الوسط المحضر وإغلاق الأنبوب ومن ثم تحضين الوسط بنفس ظروف التحضين للوسط السائل المذكورة سابقا ولمدة 48 ساعة أو أكثر،(ملاحظة يجب أن يحكم إغلاق أنبوب الزرع ولا يتم تعريضه لثاني أكسيد الكربون حتى لا يعطي نتائج خاطئة) كما تم تحضين أنبوب يحوي وسط زرع بدون حقن المستعمرة فيه كشاهد سلبي للاختبار. تم فحص الأنابيب كل يومين ولمدة أسبوع للكشف عن تخمير سكر الغلوكوز، ففي الحالة الايجابية يصبح لون الوسط أصفر ويبقى لون الوسط في الأنبوب الشاهد دون تغيير.

3-2-3-1-3- 2-فاعلية الفوسفاتيز phosphatase activity :يعتمد هذا الاختبار على تحرر الفينوفثالين من الوسط الزرعي الحاوي ملح الصوديوم لمادة الفينوفثالين ثنائي الفوسفات sodium phenolylaphthalin diphsphate . يتم أولاً تحضير الوسط الصلب وإضافة المواد اللازمة للوسط (تم تسخين مصل دم الحصان عند درجة 56 مْ لمدة30 دقيقة لتخلص من أي فوسفتيز فعال وكذلك تم تسخين محلول خلاصة الخميرة عند درجة 60مئوية لمدة ساعة لنفس الهدف)، بعد تبريد وسط الأغار الخاص بالمفطورات PPLO agar عند الدرجة 50 مْ وإضافة المواد اللازمة لنمو المفطورات للوسط، تم إضافة 10 مل من محلول فينول فثالين ثنائي فوسفات الصوديوم (1%) وبعد ذلك ضبط PH الوسط عند 7.8 وتم صب الوسط في أطباق بتري معقمة. وبعد تصلبها وجفافها حقنت بقطرات من وسط سائل تم تنمية المستعمرات النقية فيه سابقاً و ترك طبق من دون زرع كشاهد سلبي. حضنت الأطباق المزروعة لمدة 4 أيام، بعد ذلك أخرجت الأطباق المزروعة من الحضانة. أضيفت عدة قطرات من ماءات البوتاسيوم 40% على سطح الأطباق المزروعة (Freundt et al ., 1973). تكون النتيجة ايجابية إذا أعطت المستعمرات لون أحمر بسرعة خلال نصف دقيقة بينما في النتيجة السالبة يستغرق تكوين اللون الأحمر وقت أطول.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-2-3-1-3- 3-حلمهة الأرجنين: تم تحضير وسط المفطورات السائل بالطريقة المبينة في اختبار تخمير الغلوكوز وتم إجراء الاختبار بنفس الطريقة المتبعة في اختبار تخمير الغلوكوز، أضيف للوسط 25 مل من محلول الأرجنين L-arginine 30% وتم ضبطPH الوسط عند 7. في الحالة الايجابية يتغير PH الوسط نحو القلوية بمقدار0.5 حيث يصبح PH=7.5، ويتحول لون وسط الزرع من اللون البرتقالي إلى اللون الأحمر العميق.

3-2-3-1-3-4- حلمهة اليوريا: تم إجراء الاختبار على وسط الزرع السائل الخاص بالمفطورات (PPLO broth) المضاف له 10 مل من محلول اليوريا(4%) المعقمة بالترشيح بنفس الطريقة المتبعة في اختبار حلمهة الأرجنين حيث ضبط PH الوسط عند الدرجة 7 وبما أن جميع أفراد جنس المفطورات سلبية لليوريا فإن لون الوسط لم يتغير.

3-2-3-1-3-5-تكوين الغشاء والنقط production of film and spots :

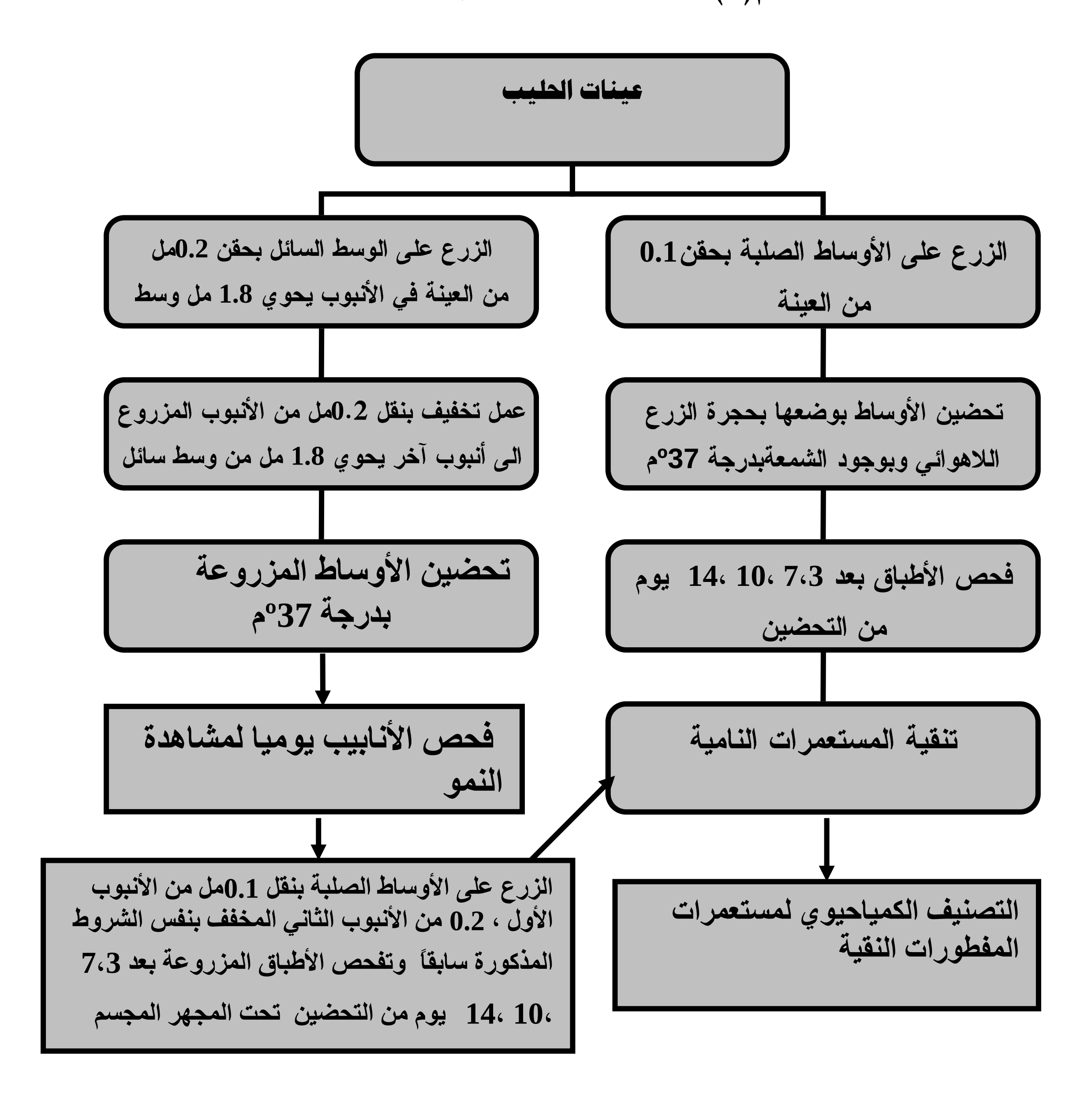
تم حقن وسط أغار المايكوبلازما الصلب بقطرات من الوسط السائل المنماة فيه مستعمرات المايكوبلازما النقية مسبقاً ووضعت الأطباق المزروعة في جرة الزرع اللاهوائي وبوجود الشمعة وحضنت بدرجة 37 مْ لمدة أسبوعين، وفحصت الأطباق كل 3-4 أيام تحت المجهر المجسم لمشاهدة المظهر المجعد للغشاء والنقط السوداء الصغيرة التي تتكون على سطح الآجار في المنطقة المزروعة بكثافة . و يوضح المخطط رقم (1) و الجدول رقم (3) طريقة عزل و تصنيف المفطورات.

الجدول رقم (3): تصنيف المفطورات المحدثة لمتلازمة جفاف الضرع المعدي.

نوع المفطورة	تخمير الغلوكوز	فعالية الفوسفاتيز	حلمهة الآرجنين	حلمهة اليوريا	تكوين الغشاء والنقط
المفطورة الأجلكتية	-	+	-	-	+
المفطورة الماعزية	+	+	+	-	-
المفطورة ميكوئيديس	+	-	-	-	-
المفطورة المزنخة	+	+	+	-	+

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المخطط رقم(1): مراحل عزل وتصنيف المفطورات



All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-2-3 -2-عزل وتصنيف المسببات الجرثومية الأخرى:

3-2-3 -2-1-تحضير عينات الحليب المأخوذة من نعاج مصابة بالتهاب الضرع السريري:

تم تثفيل عينات الحليب المأخوذة من نعاج مصابة بالتهاب ضرع سريري بالمثقلة بسرعة 3000 دورة/دقيقة ولمدة 20 دقيقة، تم التخلص من السائل المصلي وحضرت لطاخات (مسحة مجهرية) من مستوى الراسب وصبغت بصبغة أزرق الميثلين للكشف عن مسببات التهاب الضرع الجرثومية وخصوصاً العقديات.

3-2-3 -2-2-زرع العينات:

تم زرع العينة باستخدام عروة الزرع الجرثومي على وسط الأغار المدمى المضاف له 5% دم أغنام وعلى وسط آغار ماكونكي، وعلى آغار المانتول المالح وعلى وسط ادوارد.

أما عينات الحليب المأخوذة من نعاج سليمة ظاهريا فتم أخذ 0.02 مل من كل عينة حليب حسب: (Marco,1994;Contreras et al .,1997) وزرعت على نفس الأوساط المذكورة آنفاً. وحضنت الأوساط بدرجة 37 مْ لمدة 24-48 ساعة، بعد التحضين تم دراسة الخواص الشكليائية للمستعمرات النامية وخصائص نموها على الأوساط الزرعية ، حيث أن العنقوديات المخمرة لسكر المانتول الموجود في وسط آغار المانتول المالح شكلت مستعمرات صفراء نتيجة تغير لون المشعر (كاشف أحمر الفينول) ، كما درست خواص المستعمرات النامية على وسط ادوارد التمييزي للعقديات من حيث الشكل والقدرة على تحليل الدم وحلمهة الأسكولين، وقد تميزت مستعمرات العقديات المحللة للأسكولين بمظهرها البني أو المسود الدال على قدرتها على تحليله. بعد ذلك حضرت لطاخات (مسحات مجهرية) من المستعمرات النامية وصبغت بصبغة غرام ودرست خواصها الشكليائية والصباغية. وتم تنقية المستعمرات الجرثومية وذلك بفرد مستعمرة مفردة على وسط الآغار المغذي أو الأغار المدمى وحضنت الأطباق بنفس ظروف التحضين سابقة الذكر، بعد التنقية أجريت الاختبارات الأولية المتضمنة الأوكيسيداز والكاتالاز(الخميرة المرجعة) لتمييز الجراثيم المنقاة سواء كانت ايجابية الغرام أم سلبية الغرام.

ملاحظة :1- تم تقييم نتائج زرع عينات حليب النعاج السليمة ظاهرياً للحكم عليها على أنها سلبية أو ايجابية أو ملوثة حسب (Marco.,1994;Conrera et al.,1997) حيث حدد وجود التهاب الضرع تحت السريري بنمو خمس أو أكثر من المستعمرات المتماثلة ،ففي حال غياب النمو على أوساط الزرع المحقونة بعينات الحليب السليمة ظاهرياً أو نمو أقل من خمس مستعمرات جرثومية متماثلة اعتبرت العينة سلبية ولا يوجد التهاب ضرع تحت سريري،بينما حكم على العينة أنها ملوثة في حال نمو ثلاث أنماط أو أكثر من المستعمرات

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الجرثومية اعتبرت العينة ملوثة واستبعدت من مجموع العينات،أما الزرع أو العزل المختلط للأنماط الجرثومية فتم تحديده بنمو نمطين من المستعمرات الجرثومية ،و كل نمط يجب أن يوجد منه خمس مستعمرات متماثلة على الأقل.

3-2-3 -2-3-تحديد العزولات الجرثومية : بعد التعرف الأولي على العزولات الجرثومية وتنقيتها، أخضعت العزولات الجرثومية لدراسة خواصها الشكليائية والتمييزية ودراسة خواصها المزرعية و الكيمياحيوية و حركتها .

3-2-3 -2-3-1-الخواص الشكليائية للجراثيم :

تم تحضير أفلام (لطاخات) من الأوساط وصبغت بصبغة غرام وفحصت مجهرياً من أجل دراسة خواصها الشكلية وتفاعلها للصبغة، وبناءً على ذلك فقد صنفت العزولات الجرثومية إلى المجموعات التالية :

1-مكورات ايجابية غرام 2-عصيات ايجابية غرام 3- عصيات سلبية غرام

3-2-3 -2-3-2-الخواص والصفات المزرعية:

تم دراسة شكل المستعمرات على بيئة الآجار المدمى، الآجار المغذي وبيئة آجار ماكونكي، تم زرع جميع عزولات العنقوديات على بيئة الآجار المغذي للكشف عن خاصية إنتاج الأصباغ.

3-2-3 -2-3-3-الكشف عن حركة الجراثيم :

تم الكشف عن حركة الجراثيم باستخدام وسط الحركة و الاندول والكبريتيد (SIM)وهو وسط نصف صلب يستخدم في اختبار الحركة والأندول والكشف عن تشكل كبريتيد الهيدروجين.

3-2-3 -2-3-4-التصنيف الكيميا حيوي للجراثيم:

3-2-3-2-3-4-1-المكورات ايجابية غرام:

تحتوي هذه المجموعة على أفراد عائلة المكيرات الدقيقة *Micrococcaceae* وتم التمييز بين أفراد هذه العائلة كيمياحيوياً حسب(Carter et al, 1979;Quinn et al,1999) وذلك من خلال الاختبارات التالية:

3-2-3-2-3-4-1-1-المكورات الدقيقة (العنقوديات وجنس المكيرات):

-3-2 -2-3-4-1-1-1 أهم الاختبارات الأولية لتفريق بين المكورات العنقودية والمكورات الدقيقة تضمنت:

1-اختبار الأكسدة والتخمير:

أجري هذا الاختبار للتمييز بين أفراد عائلة المكيرات الدقيقة حيث أن أنواع جنس المكيرات مثل المكورات الدقيقة غير قادرة على استقلاب الغلوكوز بظروف التحضين اللاهوائي بينما أنواع جنس العنقوديات قادرة على استقلاب الغلوكوز هوائياً وبظروف التحضين اللاهوائي،

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

لذلك يستعمل هذا الاختبار لتفريق بين الجنسين ويستعمل لهذا الاختبار وسط الأكسدة والتخمير المذكور أنفا وتم إجراء الاختبار بتحضير الوسط الخاص بأكسدة وتخمير الغلوكوز (F /O) حسب تعليمات الشركة المصنعة، وبعد التحضير تم إضافة 10 مل من محلول الغلوكوز10% المحضر والمعقم بالترشيح(المرشحات الجرثومية). تم حقن مستعمرة نقية في الوسط وتم الزرع في أنبوبين، تم تغطية سطح أحد الأنبوبين بزيت البارافين المعقم وتم تحضين الأوساط المزروعة، كما تم ترك أحد الأنابيب بدون زرع كشاهد. في حال النتيجة الايجابية في أنبوب اختبار تخمير الغلوكوز يتحول لون الوسط من اللون الأزرق إلى اللون الأصفر نظراً لتغير لون المشعر(أزرق بروم الثيمول) الموجود في الوسط.

2- **اختبار المخثراز Coagulase test**

يستخدم هذا الاختبار لمعرفة أنواع العنقوديات المنتجة لهذا الإنزيم. تم إجراء الاختبار في الأنابيب حيث تم أخذ 0.5 مل من بلازم دم الأرانب في أنبوبة صغيرة وأضيف لها قطرتين من مرق الشوربة المغذية المزروعة بالعنقوديات، حُرّك الأنبوب بلطف لمزج محتوياته ثم حُضّن بالدرجة37 مْ. اعتبر تخثر البلازما خلال 2-4 ساعات نتيجة إيجابية. بعض الذراري التي أبدت تفاعلاً ضعيفاً أعيد تحضينها لمدة 24 ساعة في الدرجة 37 مْ حتى تعطي النتيجة الإيجابية القوية (Collee et al., 1996**;** Koneman et al., 1997 ; Baron et al., 1999 ;Quinn et al., 2004) . اعتبرت المكورات إيجابية الغرام والإيجابية لأنزيم التخثر عنقوديات ممرضة.

3- اختبار الكاتالاز (الخميرة المرجعة):

أجري الفحص بنقل مستعمرة فتية نامية على وسط الآغار المغذي إلى شريحة زجاجية معقمة حاوية على قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين (3%). إن تكوّن فقاعات غازية خلال بضع ثواني يشير إلى إيجابية الاختبار (Koneman et al., 1997) . يستخدم هذا الاختبار للتفريق بين العنقوديات والعقديات.

4- اختبار الأوكسيداز Cytochrome Oxidase Test

تم إجراء هذا الاختبار باستخدام ورق ترشيح مشبع بـــ % 1 من محلول Tetramethyl-P-Phenylene Diamine Dihydro Chloride موضوعة في طبق بيتري معقم، تم نقل مستعمرة فتية مختبرة إلى سطح ورقة الترشيح . إن ظهور اللون البنفسجي خلال 10 ثواني يشير إلى التفاعل الإيجابي، وعدم ظهوره يعني التفاعل سلبي (Quinn et al., 1999).

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الجدول رقم (4): الاختبارات الأولية للتفريق بين ال مكورات العنقودية والمكورات الدقيقة(المكيرات) المسببة لالتهاب الضرع

نوع الجرثومة	الكاتاليز	الاوكسديز	اكسدة وتخمير الغلوكوز O F	اختبار المخثراز
العنقودية الذهبية	+	-	+ +	+
العنقودية هيكوس	+	-	+ +	+*
العنقودية الرمية	+	-	+ +	-
لعنقودية سيمولانس	+	-	+ +	-
العنقودية المتوسطية	+	-	+ +	*+
العنقودية الصباغية	+	-	+ +	-
العنقودية اكسلوز	+	-	+ +	-
العنقودية البشروية	+	-	+ +	-
المكورات الدقيقة	+	-	+ -	-

+* = بعض الذراري ايجابية للمخثراز والتي تخثر مصورة دم الأرانب ببطء أي خلال 24 ساعة بعكس العنقودية الذهبية التي تخثر مصورة دم الأرانب خلال 4 ساعات من اجراء الاختبار.

3-3-2-3 -2-3-4-1-1-2- الاختبارات الكيمياحيوية لتصنيف العنقوديات:

:(Carter et al, 1979;Quinn et al,1999)

1- اختبار الفوسفاتيد القلوي: تم استخدام فينول فثالين ثنائي فوسفات الصوديوم وحضر محلول منه بتركيز(1%) وعقم بالترشيح، كما حضر وسط الآغار المغذي. وبعد التحضير والتعقيم بالموصدة ترك الوسط ليبرد حتى الدرجة 50 وبعد ذلك تم اضافة 10مل من محلول فينول فثالين ثنائي فوسفات الصوديوم (1%) لكل لتر من الوسط ومزج جيداً وصب في أطباق بتري. بعد تصلب وجفاف الوسط جيداً تم فرد مستعمرة مكورات عنقودية منقاة مسبقاً على سطح الوسط وحضنت الأوساط المزروعة لمدة 24 ساعة بدرجة 37م، بعد ذلك تم إخراج الأطباق من الحاضنة ووضعت بغرفة الزرع المعقمة وتم إضافة بضع قطرات من محلول الامونيا المخفف على سطح الأطباق المزروعة، ففي الحالة الايجابية يتغير لون المستعمرات النامية وما حولها إلى اللون الأحمر خلال عدة دقائق بعد ذلك يختفي اللون، أما في الحالة السلبية لا يتغير لون الوسط المزروع حول المستعمرات (Collee et al.,1996).

2- اختبار تخمير السكريات : أجري هذا الاختبار حسب (Collee et al., 1996; Koneman et al., 1997 حيث استخدم في هذا الاختبار وسط الماء الببتونية و حضر بإذابة 1غ منه في 100 مل ماء مقطر وإضافة 1مل من كاشف اندريد و 1 غ من كل من

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

السكاكر التالية: سكر الغلوكوز، اللاكتوز، المانتول، المالتوز، سكروز والارابينوز وتم صب الوسط في أنابيب معقمة وحقن (زرع) مستعمرة نقية من مستعمرات العنقوديات وترك أنبوب كشاهد سلبي للاختبار في حال النتيجة الايجابية لتخمير السكر المختبر يتحول لون الوسط الى اللون الأحمر مقارنة بالشاهد السلبي.

3- عتيدة الاختبارات الكيمياحيوية Histaph™ Identification kit : هي عبارة عن مجموعات تشخيصية استخدمت للتمييز بين أنواع العنقوديات حيث أن كل مجموعة تشخيصية تضم 12 اختبارًا (فوجس بروسكاور ،الفوسفاتيز القلوي ،اليوريز، استعمال الأرجنين ،ONPG كشف عن فعالية بيتا جلاكتوزيداز ،تخمير سكر المانتول، المالتوز، السكروز، اللاكتوز، الارابينوز، الرافينوز و التريهالوز) وتم إجراء الاختبارات حسب تعليمات الشركة المصنعة (Hi media) وتمت قراءة نتيجة الاختبارات وفقاً للدليل المرفق بالعتيدة .

جدول رقم(5): تصيف العنقوديات وفق الاختبارات الكيمياحيوية التقليدية وحسب العتيدة التشخيصية Histaph™ Identification kit

نوع الجرثومة	VP	Alkal. phos	ONPG	Urease	Arg.util	Man	Suc	Lac	Ara	Raf	Tre	Mal
العنقودية الذهبية	+	+	-	+w	-w	+	+	+	-	-	+	+
العنقودية هيكوس	-	+	-	v	+	-	+	+	-	-	+	-
العنقودية المتوسطية	-	+	-	+	v	v	+	v	-	-	+	+
العنقودية الرمية	+	-	v	+	-w	v	+	v	-	-	+	+
العنقودية سيمولانس	-w	+	+	+	+	+	+	-	-	-	v	-w
العنقودية الصباغية	-	+	-	v	+	+	+	+	-	-	+	v
العنقودية اكسلوز	v	v	+	+	-	v	+	v	-	-	+	+
العنقودية البشروية	+	+	-	+	+w	-	+	v	-	-	-	+

VP=فوجس بروسكاور، Alkal. Phos =الفوسفاتيز القلوي، ONPG= للكشف عن فعالية بيتا جلاكتوزيداز ، Urease = انظيم اليوريز، Arg.util= استعمال الأرجنين، Man= مانتول، Mal =مالتوز، Suc= سكروز، L ac= لاكتوز، Ara= ارابينوز، Raf =رافينوز و Tre =تريهالوز.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-3-2-3 -2-3-4-1-1-3- اختبارات عوامل الضراوة:

1- اختبار إنتاج انزيم الحالة الدموية(تحلل الدم) : **Hemolysin Production Test**

درست قدرة الجراثيم على إنتاج هذا الانزيم باستخدام وسط الأغار المدمى المضاف إليه دم أغنام. زرعت الأطباق الحاوية على هذه الأوساط بمستعمرات نقية طازجة من العنقوديات والعقديات بطريقة التخطيط وحضنت بدرجة 37 مْ لمدة 24 ساعة، بعد ذلك تمت قراءة النتائج و تسجيلها. يعتبر التحلل من نوع(β) تحلل كامل ، والتحلل من نوع ألفا(α) تحلل جزئي ، أما تحلل من نوع غاما (δ) **فلا** يظهر التحلل بشكل واضح (Quinn et al., 2004).

2- اختبار إنتاج اليورياز: Urease Test :

يستخدم للكشف عن وجود انزيم اليوريز Urease. يحضر الوسط بتركيز 4.6 غراماً / 190 مل ماء مقطر ، بعد التعقيم تضاف اليوريا المعقمة بالترشيح بمقدار 10 مل للنسبة المذكورة . (Cruickshank et al. , 1975)

3-اختبار انتاج الديناز DNASE TEST .

زرع وسط آغار الدناز بالعزولات الجرثومية بطريقة التخطيط وبعد التحضين بدرجة 37 مْ لمدة 24 ساعة، تم غمر الوسط بمحلول حمض كلور الماء Hcl (1N) . إن ظهور مناطق رائقة غير معتمة حول المستعمرات دليل على إيجابية التفاعل وأن هذه الجراثيم منتجة لهذا الأنزيم **(Collee et al.,1996)**

4- اختبار المخثراز Coagulase test:

شرح هذا الاختبار سابقا، حيث **أن** بعض أنواع العنقوديات تنتج إنزيم المخثراز الذي يكون قادراً على تخثير بلازما دم الأرانب، والمخثراز عبارة عن بروتين خارج خلوي يرتبط مع البروثرومبين في الثوي ليشكل معقد يعرف أو يدعى بالثرومبين العنقودي staphylothrombin . **إن** الفعالية الإنزيمية التي يتم تنشيطها في المركب المتشكل تؤدي إلى تحويل مولد الليفين الى ليفين.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الجدول رقم (6): اختبارات عوامل الضرواة التي أجريت لتصنيف العنقوديات

نوع الجرثومة	DN- ASE اختبار الدينيز	UREASE اختبار انتاج اليورياز	HLY إنتاج انزيم الحآلة الدموية	انزيم المخثراز
العنقودية الذهبية	+	+	**بيتا، ألفا(α, β)**	+
العنقودية هيكوس	+	+	**جاما γ**	+*
العنقودية المتوسطية	-	+	**بيتا ،جاما β , γ**	+
العنقودية الرمية	+	+	**بيتا ،جاما**	-
العنقودية سيمولانس	+	+	**جاما γ**	-
العنقودية الصباغية	-	+	**جاما γ**	-
العنقودية اكسلوز	-	+	**جاما γ**	-
العنقودية البشروية	+	+	**جاما γ**	-

β = تحلل دموي كامل، **α**= تحلل دموي جزئي (حول المستعمرات فقط)، **γ**= لايوجد تحلل.

3-3-2-3 -2-3-4-1-2- المكورات العقدية:

3-3-2-3 -2-3-4-1-2-1-صنفت كيماحيوياً حسب (Carter et al, 1979;Quinn et al,1999) **باجراء الاختبارات التالية:**

1- **اختبار الكاتالاز(الخميرة المرجعة):**

أجري الفحص بنقل مستعمرة منقاه نامية على وسط الآغار الدموي إلى شريحة زجاجية معقمة على قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين(3%)، في حالة العقديات تكون النتيجة سالبة أي عدم وجود فقاعات هوائية نظراً لعدم قدرتها على تحليل الماء الاوكسيجيني (بيروكسيد الهيدروجين)

2- **تحليل الدم على بيئة الآغار المدمى:**

درست قدرة الجراثيم على إنتاج هذا الانزيم وتحلل الدم باستخدام قاعدة آجار الدم المضاف إليه دم أغنام(5%) . زرعت الأطباق الحاوية على هذه الأوساط بمستعمرات نقية طازجة من العقديات بطريقة التخطيط وحضنت بدرجة 37 مْ لمدة 24 ساعة، بعد ذلك تمت قراءة النتائج و تسجيلها. يعتبر التحلل من نوع(β) تحللاً كاملاً، والتحلل من نوع ألفا(α) تحللاً جزئياً، أما تحلل من نوع غاما (δ) **فلا** يظهر التحلل بشكل واضح (Quinn et al., 2004).

3- **تحليل الاسكولين:** تمت دراسة قدرة العقديات على تحليل الاسكولين على وسط ادوارد وذلك بفرد مستعمرة على وسط ادوارد والتحضين لمدة 24 ساعة، بعد ذلك تم قراءة النتائج

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

وتسجيلها. في الحالة الايجابية تظهر المستعمرات سوداء اللون (العقدية ايبرس والعقدية البرازية) اما في الحالة السلبية تظهر المستعمرات بنفسجية اللون وشفافة وصغيرة (العقدية الاجلكتية والعقدية ديس اجلكتية).

4 – **اختبار هيبيورات الصوديوم:** يستعمل هذا الاختبار للتمييز بين أنواع المكورات العقدية التي يمكن لها النمو على أملاح الهيبيورات وتحليل حمض الهيبوريك الى حمض البنزويك والجليكوكول. تم تحضير الوسط بإذابة وسط منقوع القلب والدماغ في لتر ماء مقطر (حسب تعليمات الشركة المصنعة)، وتم اضافة 10 غرام من مركب هيبيورات الصوديوم وتم المزج حتى اكتمل ذوبان هيبورات الصوديوم في الوسط وتم التعقيم بالموصدة عند الدرجة 115 ولمدة 20 دقيقة. بعد ذلك تم صب الوسط في انابيب معقمة، وبعد التبريد الكامل تم حقن مستعمرة نقية من مستعمرات المكورات العقدية وحضنت بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة، وبعد ذلك تم تثفيل الوسط وأخذ 0.8 مل من السائل الطافي في أنبوب معقم وأضيف له 0.2مل من محلول كلوريد الحديد. في الحالة الايجابية يتشكل راسب دائم لا يختفي بمرور الوقت حتى بعد إضافة الكاشف مرة أخرى (العقدية الاجلكتية والعقدية ايبرس) أما في الحالة السلبية لا يتشكل راسب أو يتشكل ويختفي بسرعة(العقدية ديس اجلكتية، العقدية البرازية و العقدية المقيحة وغيرها) (Quinn et al.,1999).

5– **اختبار كامب CAMP test**: يعتبر هذا الاختبار من الاختبارات المهمة التي تميز العقدية الاجلكتية عن غيرها. يعتمد هذا الاختبار على إظهار خاصية الانحلال الدموي ونوع هذا الانحلال. تم إجراء هذا الاختبار على وسط الآجار المدمى المضاف له دم الأغنام 5% وتم زرع على امتداد قطر الطبق (خط أفقي) مستعمرات من المكورات العنقودية الذهبية المحللة للدم تحليلاً غير كامل وزرع بشكل عامودي عليه وعلى بعد 1سم من القطر مستعمرات مشتبهة على أنها عقدية اجلكتية ، وتم تحضين الوسط بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة. في الحالة الايجابية تظهر عند تلاقي مناطق الانحلال الدموي منطقة نيرة كاملة الانحلال شفافة ذات شكل هلالي أو شكل رأس سهم تحيط بالعقدية الاجلكتية.

6– النمو على وسط الماكونكي: يساعد هذا الاختبار في التمييز بين المكورات العقدية القادرة على النمو بوجود أملاح الصفراء والمحللة للاسكولين من تلك التي لا تستطيع النمو بوجود أملاح الصفراء ومحللة للأسكولين. حقنت مستعمرات العقديات المنقاة والطازجة على وسط آغار الماكونكي وحضنت الأوساط لمدة 24 ساعة عند الدرجة 37 م° بعد ذلك درست المستعمرات النامية. في حال وجود نمو على الوسط المزروع، فهذا يدل على أن العقديات النامية هي العقدية البرازية وإن عدم وجود نمو يدل أن العقديات هي من النوع ايبرس(Quinn et al.,1999) .

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

7- **اختبار تخمير السكريات :** تم إجراء الاختبار بنفس الطريقة التي سبق شرحها في اختبارات تخمير السكاكر للعنقوديات (1% من كل من سكر الأنولين ،لاكتوز، مانتول ، رافينوز، سوربتول، تريهالوز).

الجدول رقم (7): أسس و طريقة تصنيف العقديات.

الإختبار	العقدية الأجلكتية	العقدية ديس أجلكتية	العقدية إيبرس	العقدية البرازية
اختبار الكاتلاز	-	-	-	-
اختبار الأوكسيداز	-	-	-	-
تحليل الدم	معظمها محللة نمط β	معظمها محللة نمط α	معظمها محللة نمط α	معظمها محللة نمط α
تحليل الاسكولين	-	-	+	+
هيبورات الصوديوم	+	-	+	-
اختبار كامب	+	-	-	-
النمو على بيئة الماكونكي	-	-	-	+
تخمير الأنولين	-	-	+	-
تخمير لاكتوز	+	+	+	+
تخمير مانتول	-	-	+	+
تخمير رافينوز	-	-	-	-
تخمير سوربتول	-	-	+	+

ملاحظة : نمط التحليل بيتا (β) يعني تحلل دموي كامل ، نمط ألفا (α) هو تحلل جزئي لكريات الدم الحمراء .

3-3-2-3 -2-3-4-1-3-العصيات ايجابية غرام غير المتبوغة:

وتشمل هذه المجموعة أنواع الوتديات والشعية المقيحة والتي تم دراسة خواصها الكيمياحيوية وفقا (Carter et al, 1979;Quinn et al,1999) **باجراء الاختبارات التالية:**

1- اختبار الكاتلاز(الخميرة المرجعة) .

2- تحليل الدم على بيئة الاجار المدمى.

3-تخمير سكر اللاكتوز، السكروز، المانتول.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الجدول رقم (8) الاختبارات الاولية للعصيات ايجابية غرام

الشكل المجهري	التحلل الدموي	تخمير المانتول	تخمير السكروز	تخمير اللاكتوز	الكاتاليز	نوع الجرثومة
عصيات G+	α	+	+	+	+	جنس الوتديات
عصيات G+	غيرمحللة للدم (-)	-	+	+	–	أنواع.جنس.العصيات الشعية
عصيات G+ متبوغة	محللة للدم(β)	+	+	+	+	أنواع جنس العصيات Bacillus spp

3-3-2-3 -2-3-4-1-4-العصيات سالبة الغرام:

تم تحديد هوية هذه المجموعة من الجراثيم حسب (Carter et al, 1979; Koneman et al., 1997;Quinn et al,1999 باجراء الاختبارات التالية:

1-اختبار الأوكسيداز Cytochrome Oxidase Test: أجري كما تم شرحه سابقاً

2-اختبار الكاتالاز (الانزيم المرجعة): أجري كما تم شرحه سابقاً.

3-اختبار الاندول Indol Test: يعد الاندول أحد نواتج تحليل الحمض الاميني تريبتوفان من قبل بعض الجراثيم التي لها القدرة على ذلك. أجرى الاختبار بتنمية المستعمرة النقية المختبرة في ماء الببتون أو في وسط الاندول والحركة(SIM) وحضنت الأوساط المزروعة لمدة 24 ساعة بدرجة 37 م° وبعد ذلك تم إضافة قطرات من كاشف كوفاك. في الحالة الايجابية تتكون حلقة حمراء اللون(Cruickshank et al . , 1975) .

4-اختبار تمثيل السترات Citrate Utilization Test: استخدم وسط السترات لسيمون ، حيث أن تحول لون الوسط من الأخضر الى الأزرق يدل على النتيجة(+)

5-النموعلى وسط آغار أزرق المثيلين والايوزين: Eosine Methylene Blue Agar

وهو وسط تفريقي لجراثيم الاشريكية القولونية، حيث أن جراثيم الاشريكية القولونية تنمو على الوسط مشكلة مستعمرات ذات لمعة معدنية مميزة.

6-اختبار حلمهة اليوريا Urea Test: استخدم هذا الاختبار للكشف عن مقدرة الجراثيم على حلمهة اليوريا.

7-اختبار النمو على وسط آغار ثلاثي السكر والحديد Triple suger iron agar

يستخدم هذا الاختبار للكشف عن الجراثيم المخمرة لسكريات اللاكتوز والسكروز والغلوكوز وكذلك إنتاج كبريتيد الهيدروجين H_2S، يحضر الوسط بتركيز 65 غراماً/لتر ماء مقطر، تم الوسط في أنابيب معقمة بشكل مائل وحقنت مستعمرة من العصيات سلبية غرام المنقاه على سطح الوسط وحضنت الأنابيب بدرجة 37 م لمدة 24 ساعة ،بعد ذلك تم قراءة النتيجة وسجلت النتائج .

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

8-**اختبار الأكسدة والتخمير (F/ O):** يستخدم هذا الاختبار لتمييز وتفريق جراثيم الزوائف عن غيرها من الجراثيم سالبة غرام وتم إجراء هذا الاختبار على وسط الأكسدة والتخمير، تم زرع مستعمرات الجراثيم المنقاة المراد تمييزها في أنبوبين من هذا الوسط، أنبوب يغطى سطح الوسط فيه بزيت البارافين المعقم والأخر يترك بدون زيت وترك أنبوب ثالث بدون زرع كشاهد سلبي، في حال أن الجراثيم نمت فقط في أنبوب الزرع بظروف هوائية تكون هي من جنس الزوائف (مثل الزائفة الزنجارية) أما في حالة تخمير الغلوكوز في كلا الأنبوبين فهي من جنس الإمعائيات.

9- **اختبار تخمير السكريات (** ارابينوز، تريهالوز، لاكتوز، سكروز، مالتوز، مانيتول**)**

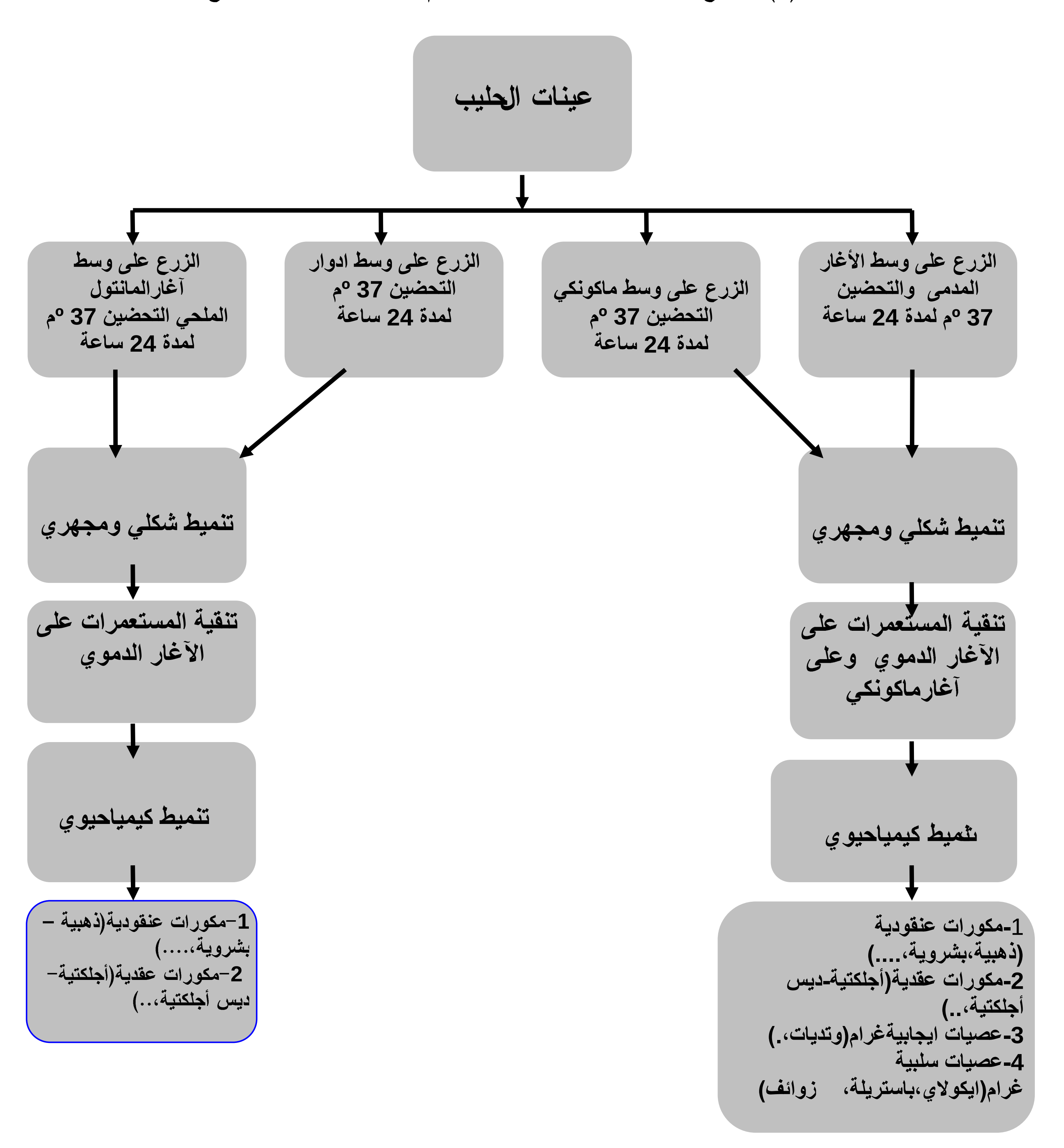
الجدول (9) الأساس المرجعي لتصنيف العصيات سلبية غرام

نوع الجرثومة	Cat	Oxid	HLY	Gro .MaC	Indo	glu	Suc	Lac	Mal	Man	H2S	Ureas
إشريكية قولونية	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−
مانهيميا محللة للدم	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	v	−
باستريلة قتالة	+	+	−	−	+	+	+	−	−	+	+	−
زائفة زنجارية	+	+	+	+	−	v+	+	−	−	−	−	+

Cat= كاتليز،Oxid = أوكسيديز ،HLY = تحلل الدم ،Gro .MaC =النمو على وسط مكونكي، Indo= انتاج الاندول،glu = غلوكوز، Suc= سكروز، Lac= لاكتوز، Mal= مالتوز، Man= مانتول ،H2S = انتاج كبريتيد الهيدروجين،Ureas = انتاج اليوريا.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المخطط (2) يوضح طريقة عزل وتصنيف الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع



All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-2-4-اختبار تحسس الجراثيم المعزولة للصادات الحيوية:

تم إجراء اختبار الحساسية حسب ما ورد في (Quinn et al., 1999) وذلك بزرع مستعمرات جرثومية طازجة في محلول ملحي معقم Saline أو شوربة مغذية على شكل معلّق جرثومي عكارته تقارب 0.5 عكارة أنبوب ماك فرلاند رقم (1). تم نشر المعلّق الجرثومي باستخدام ماسحة قطنية معقمة على سطح آغار موللرهنيتون وتركت الأطباق لمدة 15 دقيقة لتجف ثم وضعت أقراص الصاداتالمدروسة وحضنّت الأطباق لمدة 24ساعة بالدرجة 37 مْ. بعد ذلك تم قياس قطر مناطق تثبيط النمو للجراثيم و قورنت بالنسبةات القياسية حسب توصيات الشركة المنتجة.

ملاحظة: تم اضافة دم أغنام 5-10% الى وسط موللرهنتون المعد لاجراء اختبار حساسية جراثيم العقديات للصادات الحيوية كون هذه الجراثيم نيقة وتحتاج لأوساط غنية .

الجدول رقم (10) : الصاداتالمستخدمة في الدراسة

الصاد الحيوي	الرمز	تركيز قرص mcg/	مقاومة R ملم أو أقل	متوسطة المقاومة I	حساسة S ملم أو أكثر
Amoxicillin	AMX	25	22	23-30	31
Ampicillin	AM	10	22	23-30	31
Ciprofloxacin	CIP	5	15	16-20	21
Enrofloxacin	ENR	5	15	16-20	21
Colistin sulphate	COL	10	8	9-10	11
Neomycin	N	30	12	13-16	17
Penicillin	P	10	20	21-28	29
Streptomycin	S	10	11	12-14	15
Tetracycline	TE	30	14	15-18	19
Lincomycin	LN	2	9	10-14	15
Gentamicin	GN	10	12	13-14	15
Co-trimoxazole	SXT	25	11	12-16	17
Novobiocin	NV	5	17	18-21	22
kanamycin	k	30	13	17-14	18

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-2-4-الدراسة الوبائية والإحصائية:

3-2-4-1-تصميم الدراسة :

3-2-4-1-1-جمع العينات السريرية: تم اعتماد طريقة العينة المهدفة،حيث أن عناصر العينة تكون مختارة من أجل بعض الأغراض أو الأهداف،فمن الممكن أن نأخذ حيوانات مختارة وتمثل العينة بشكل نموذجي محكم للمجموعة المأخوذة منها وبشكل بديل،عند دراسة المرض فإن الحيوانات المريضة يمكن أن تختار بشكل أكثر تكرارا من السليمة،وحتى عند الاختيار النموذجي للعينة المختارة،فإن تلك الحيوانات المختارة من غير المحتمل أن تمثل مدى الحيوانات المختلفة في المجتمع الحيواني المدروس وهكذا فإن العينة المهدفة لا تعطي عينة ممثلة للمجتمع المدروس.

3-2-4-1-2-جمع العينات السليمة ظاهرياً:

تم اعتماد الدراسة المقطعية المتصالبة Cross sectional study في هذه الدراسة حيث تم اخذ العينات وبشكل عشوائي وبحجم (ن) بحيث تكون ممثلة للمجتمع الحيواني وفي فترة زمنية محددة وفي الدراسة المقطعية يجري أيضا قياس وجود عامل المرض وعامل الخطورة الافتراضي ولكل حيوان في نفس الوقت ، ثم يجري بعد ذلك تصنيف البيانات تصنيفا مزدوجا ويمكن في الدراسة المقطعية المتصالبة دراسة أكثر من عامل خطورة مفترض في نفس الدراسة وإجراء التحليل الإحصائي لهم وذلك لمعرفة علاقتهم بالمرض وفي هذه الدراسة لا يتم تحديد عدد الحيوانات المريضة وغير المريضة وكذلك لا يتم تحديد عدد الحيوانات المعرضة لعوامل الخطورة وغير المعرضة لعامل الخطورة وإنما يجري قبل بدء الدراسة تحديد حجم العينة (ن). وتتميز هذه الدراسة بأنها سهلة وسريعة وغير مكلفة ماديا وهي تسمح بدراسة أكثر من عامل مفترض له علاقة بالمرض وفي حالة وجود المرض بصورة عالية فإننا نحتاج لعدد قليل من الحيوانات لإجراء الدراسة(الشريف والعاني،2001).

3-2-4-3- دراسة تأثير عوامل الخطورة على حدوث التهاب الضرع المعدي عند الأغنام

تم اختيار قطعان الأغنام بشكل عشوائي موزعة في مناطق مختلفة من ريف محافظة حماة وحمص بالإضافة إلى قطعان محطات البحوث في حمص وحماة، وبلغ عدد القطعان المشمولة بالدراسة حوالي 40 قطيع ومتوسط عدد الأغنام بكل قطيع 120 نعجة حلوب،وأثناء زيارة هذه القطعان تم أخذ العينات من النعاج المصابة بالتهاب الضرع السريري وعينات من النعاج السليمة ظاهرياً ووزع استبيان على المربين وكانت المعلومات في الاستبيان مقسمة إلى قسمين، فالقسم الأول شمل النواحي الإدارية والجغرافية مثل المنطقة، حجم القطيع،عدد النعاج الحلوب،عمر النعجة المأخوذ منها العينة،تأريخ الولادة ،عدد المواليد،نوع الولادة، كمية إنتاج

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الحليب،الفترة المنقضية من الولادة،نظام التربية،التغذية،نظام الحلابة،تعقيم حلمات الضرع قبل وبعد الحلابة،تعقيم أيدي الحلابين قبل الحلابة.أما القسم الثاني فشمل النواحي المتعلقة بالأمراض المرافقة مثل الإصابة بالأمراض التنفسية مثل الإصابة بالإنتانمية النزفية (داء الباستريلات) والاصابة بذات الجنبة والرئة (المايكوبلازما) والاصابة بمتلازمة جفاف الضرع المعدي،الإصابة بالخراجات السطحية،الإصابة بالتهاب الضرع سابقا،إصابات الحلمات بالآفات المرضية كالجروح والإصابات الناتجة عن العدوى الفيروسية (الأكثيما المعدية) ،بالإضافة إلى دراسة النواحي المتعلقة بالسيطرة والعلاج والتي شملت:التحصين ومعالجة الأمراض المختلفة،الرضاعة وإجراءات الأمن الحيوي(نظافة الحظائر وتعقيمها ونظافة الصوف حول الضرع)

الجدول رقم (11): عوامل الخطورة المدروسة المؤثرة على حدوث التهاب الضرع المعدي.

المنطقة	**REGION**	**1-Hama 2-Homs**	**متغير ثنائي الحدين**
حجم القطيع	**FLOCKS**	**2.>=120 ، 1. <50**	**متغير ثنائي الحدين**
العمر الانتاجي	**AGEPRD**	**≥2 , ≤5**	**متغير ثنائي الحدين**
وجود ازدحام أم لا	**CROWDING**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**
نوع الولادة	**BRITHTYPE**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**
وجود التهاب الضرع سابقاً	**MASTITISD**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**
عدم المعالجة نتيجة ارتفاع سعر العلاج	**DRUGP**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**
العناية بالقطيع	**FLOCKM**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**
التغذية الجيدة	**GOODNEUT**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**
وجود اصابات أخرى	**PRESNCE INFECTION**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**
نظافة الصوف حول الضرع	**WOOLCLEAN**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**
كمية إنتاج الحليب	**MILKPRODU**	**≥50 , ≤100**	**متغير ثنائي الحدين**
الاعتماد على المرعى فقط	**GRASSNE**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**
تعقيم أيدي الحلابين	**HANDSSTRI**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**
تعقيم حلمات الضرع	**TEATSTRI**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**
نظام الحلابة	**MILKING**	**0.لا 1.نعم**	**متغير ثنائي الحدين**

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-2-5-طرق التحليل الإحصائي والتقييم والوبائي Statical analysis & Epidemiological Evaluation

3-2-5-1-حساب نسبة انتشار حالات التهاب الضرع المعدي:

يعتبر الانتشار من أهم مقاييس نسبةات الإصابة ضمن المقاييس الوبائية لتقيم وبائية مرض ما وحسب الباحثون(Martin, et al., 1987) فان الانتشار يمكن أن يعطى من خلال العلاقة التالية:

الانتشار = عدد الحيوانات المصابة (المريضة) في نقطة زمنية محدودة×100

إجمالي الحيوانات الواقعة تحت خطر الاصابة

وتم حساب نسبة الانتشار وفق عدة مؤشرات:

- انتشار التهاب الضرع المعدي حسب المنطقة
- انتشار التهاب الضرع المعدي حسب العمر الإنتاجي
- انتشار التهاب الضرع المعدي حسب شكل الالتهاب (سريري ، تحت سريري)
- انتشار التهاب الضرع السريري
- انتشار التهاب الضرع تحت السريري
- كما تم حساب نسبة الحالة القاتلة وفقاً للعلاقة :

نسبة الحالة القاتلة = عدد حالات النفوق من مرض نوعي

عدد الحيوانات المريضة

3-2-5-2-دراسة العلاقات بين عوامل الخطورة و حدوث التهاب الضرع المعدي عند الأغنام The study of relationships between the potential risk factors and contagious mastitis in ewes

استخدم في التحليل الإحصائي تقنيات الانحدار اللوغاريتمي المتعدد (Multiple Logistic Regression) وفيما يلي تبيان أسباب استخدام الانحدار اللوغاريتمي للتحليل الإحصائي لدراسة العلاقات فيما بين عوامل الخطورة المؤثرة على انتشار مرض التهابات الضرع السارية و الوصول إلى أهم عوامل الخطورة المؤثرة على المرض و بالتالي الاستفادة من هذه المعرفة لوضع خطة التحكم بالمرض

أسباب استخدام الانحدار اللوغاريتمي Reasons for using Logistic Regression

حسب ما ذكو الباحث (AL-Omar, 2000) إن طرق تحليل الانحدار قد أصبحت في عالم الإحصاء المكون الأساسي في تحليل البيانات المتعلقة بوصف العــلاقة بين المتغير المرضي و المتغيرات المتوقع أن تكون مؤثرة عليه. وفي العقد الأخير أصبح نموذج الانحدار اللوغاريتمي يمثل الطريقة القياسية في تحليل مثل هذه الحالات في العديد من حقول البحث

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

العلمي و من المهم أن نفهم أن هدف التحليل باستخدام الانحدار اللوغاريتمي هو مشابه لبناء أي نموذج تقني إحصائي يهدف إلى إيجاد أفضل تطابق حيوي معقول للنتائج في النموذج لوصف العلاقة بين متغير الناتج (المتغير غير المستقل أو المستجيب) و المتغيرات المستقلة (المنبأة أو المفسرة)، و هذه المتغيرات المستقلة تدعى غالبا بعوامل الفروقات Covariates. وحسب الباحثان (Hosmer & Lemeshow, 1989) الاختلاف الأساسي بين نماذج الانحدار اللوغاريتمي و نموذج الانحدار الخطي هو أن المتغير الناتج في الانحدار اللوغاريتمي هو ثنائي (Binary) حيث يأخذ أما القيمة صفر (0) أو القيمة واحد (1) علما أن كلاهما يعكسان نموذج الاحتمالية الحدية و فرضياتها لذلك لابد من أن نأخذ بعين الاعتبار في طريقة تحليل الانحدار اللوغاريتمي نظرية النماذج الخطية العــامة (Generalized Linear Models – GLM)

و بالتالي يتبع نفس المبادئ العامة المستخدمة في الانحدار الخطي,McCullagh & Nelder) (1983.العديد من الإحصائيين يقومون باستخدام طريقة التشابهات في الانحدار الخطي و المعتمدة على نظرية GLM's، و يبرر استخدام الباحثين لنظرية GLM‘s كبر حجم العينة التقريبي بينما يستخدم مجموعة أخرى من الباحثين الإحصائيين النظرية الطبيعية للانحدار الخطي أو بما يسمى"بالكمال"‘‘exact ‘‘.إن التقدير القياسي لتطابق نظرية GLM‘s هو في الانحراف أو ما يسمى أحيانا بالتباعد Deviance و أيضا تعرف باختبار G statistic .

و من خلال استخدام نظرية العدم في نموذج إحصائي معين ، فان الانحراف يتبع توزع مربع كاي Chi-square distribution و بالتالي يلعب دوراً مشابهاً في تقييم الخطأ الزائد في الانحدار الخطي لحساب الفرق بين النموذج المطبق و البيانات الفعلية ، و هكذا كلما كان الفرق بين الانحراف و درجة الحرية صغيراً كلما كان التطابق أفضل و عندها نستخدم التطابق التام للقياس بشكل عام، فإن مطابقة قيمة P يجب أن تفسر بحذر.

1- **تطابق النموذج Fitting of the Model**

أوضح الباحث(McNeil,1996) أن موديل الانحدار اللوغاريتمي يستخدم عندما تكون احتمالية المرض الحادث(المتغير الناتج أو الغير مستقل) قليلة و عدد الحالات المعرضة لخطورة المرض كبيرة. و من خلال حساب تناسب الأفضلية(OR) الذي يقيس حدوث المــرض تحت خطر المتغير الغير مســتقل كوحدة الــزمن مرتبطة مع كل حيوان مدروس و معرض للإصابة يمكننا تحديد العامل الأكثر تأثيرا في حدوث المرض.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

فإذا كان هناك p متغير مستقل $X_1, X_2, X_3, \dots\dots X_P$ فان الانحدار اللوغاريتمي يأخذ الشكل التالي :

$$\lambda = Exp(A + \sum_{j=1}^{p} b_j x_j)$$

λ : حدوث المرض a و b تمثل هذه الحدود ($p, \dots\dots, j=1, 2, 3$)

A: الثابت

Xj To X : عوامل الخطورة

b_j b To: لوغاريتم تناسب حدوث الأفضلية (OR) المترافق مع كل عامل

في نموذج الانحدار أللوغاريتمي إن تناسب الأفضلية (OR) يصف تأثير المتغيرات المفسرة (المستقلة) على المرض، وإن قيمة الانحراف أو التباعد (deviance) في نموذج الانحدار اللوغاريتمي تعطي قياساً للتطابق التام للنموذج و لذلك فإذا كانت قيمة الانحراف هذه قريبة لدرجة الحرية ، وهذا يشير إلى التطابق في النموذج ، و إذا كانت قيمة الانحراف مرتفعة فنقول إن هناك تشـــتت كبير (over – dispersion) أو اختلاف لوغاريتمي كبير و الذي يشير إلى أن هناك تغير شامل في الناتج عن ما هو مأخوذ بالحسبان بافتراض أن الناتج للعوامل المختلفة مستقلة.

2− قياس المعنوية Measurement of Significance

إن النمذجة للبيانات في الممارسة العملية هي عـــملية أكثر تعقيدا مـــن عملية تطابق الاختبار. و بعد تقدير معاملات النموذج ، فإننا ننظر في البداية إلى تطابق النموذج بشكل عام من حيث تقييم المعنوية للمتغيرات في النموذج . وهذا عادةً يشمل تشكيل و اختبار النظرية الإحصائية لتحديد فيما إذا كانت المتغيرات المستقلة في الموديل هي معنوية بالنسبة للمتغير غير المستقل أو الناتج (Hosmer & Lemeshow, 1989) . إن طرق اختبار المعنوية بالنسبة للمتغيرات في أي نموذج يرتبط بالسؤال التالي:

هل يتضمن النموذج ذاك المتغير الهام و الذي يجيبنا على السؤال الخاص بالمتغير غير المستقل منه أم أن هذا المتغير يعتبر غير هام و يؤثر على المتغير غير المستقل و الذي هو موضوع الدراسة و البحث ؟

وهذا السؤال يجاب عليه من خلال مقارنة القيم المشاهدة في المتغير غير المستقل مع كل متغير مستقل مدروس في كلا النموذجين أي مقارنة النموذج الأول مع النموذج الثاني. و هذه الطريقة عموماً تستخدم في تقييم المعنوية للمتغيرات و هي سهلة وواضحة في نموذج الانحدار

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الخطي و إن استخدامها في نموذج الانحدار الخطي سوف يوجهنا لاستخدامها في عرض الانحدار اللوغاريتمي المستخدم في هذا الفصل ففي الانحدار الخطي يكون اهتمامنا مركز على التغير في مربع مجموع الانحدار(Regression Sum Of Squares) وهكذا فإن الموجه الأســـاسي للانحدار اللوغاريتمي يكون بمقارنة القيم المشـــاهدة للمتغير المدروس (مثلاً مرض ما) مع القيم المشاهدة للمتغيرات المستقلة التي سوف تجيبنا على السؤال الذي نحن في صدده وإن القيم المشاهدة و المقارنة في الانحدار اللوغاريتمي مع المتغيرات المستقلة تعتمد على وظيفة الاحتمالية اللوغاريتمية .و على أية حال فإن مقارنة المتغيرات المستقلة باستعمال احتمالية التشابه تعتمد على القانون التالي:

$$\text{Eq(2)} D = -2\text{Ln}\left[\frac{\text{(likelihood of the current model)}}{\text{(likelihood of the sturated model)}}\right]$$

مثل هذا الاختبار يدعى اختبار تناسب احتمالية التشابه و تدعى القيمة D الإحصائية في القانون 2 عند بعض المحللين (McCullagh & Nelder, 1983) بالانحراف(deviance)، ويلعب الانحراف دوراً مركزيا في تقييم التطابق التام للموديل. حيث أن الانحراف كما هو موضح في القانون 2 هو مجموع المربعات الزائدة (Residul Sum of Squares). لذلك فإن المعنوية في المتغير المستقل تقاس من خلال مقارنة قيمة D مع أو بدون المتغير المستقل في الموديل. و تغير قيمة D تحسب من خلال القانون التالي:

G = D (for themodel withou the variable)-D (for themodel with the variable) Eq. (3)

و أخيرا تحسب قيمة P المترافقة مع اختبار G الإحصائي اعتماداً على تعريف G على أنها مربع كاي (chi- Square)و تحسب درجات الحرية حسب الباحثين (Hosmer & Lemeshow,1989) حسب (***k***) وهي عدد مستويات الفئات المتضمنة للمتغير في اختبار تناسب احتمالية التشابه و التي سوف تكون (k-1) .

3- العلاقة بين عوامل الخطورة الكامنة و الإصابة بالتهاب الضرع المعدي عند الأغنام:

The relationships between the potential risk factors and occurrence of Contagious mastitis in ewes

تم دراسة مجموعة العوامل التي تؤثر على حدوث التهابات الضرع السارية عند الأغنام من خلال دراسة هذه العوامل حيث يمكن اقتراح توصيات تعتبر بمثابة استراتيجيات مستقبلية للتحكم بهذا المرض.

المتغيرات (العوامل) المستقلة و غير المستقلة Independent & Dependent variables

شملت هذه الدراسة كلا من صفات الحيوان الخاصة و العوامل البيئية المرتبطة بشكل أو بأخر بحدوث الإصابة كالمنطقة الجغرافية و الصفات الإنتاجية لكل حيوان. في البداية تم إدخال العديد من عوامل الخطورة و لطالما كانت بعض العوامل غير معنوية مثل وجود صوف

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

كثيف حول غدة الضرع أو عمليات التعقيم قبل و بعد الحلابة و كذا عمليات التعقيم الخاصة بالحلاب و كذا تداخل العمر الحقيقي مع العمر الإنتاجي لذا تم إهمالها في النموذج النهائي و كان المتغير المستقل الوحيد هو حدوث التهابات الضرع السارية وقد تم إدخال كافة العناصر غير المستقلة على شكل ثنائي (binary) أخذت الرمز 1 في الحالة الايجابية(وجود عامل خطورة) و 0 في الحالة السلبية(عدم وجود عامل خطورة) و بنفس الطريقة أدخلت المتغيرات المستقلة إلا أن العمر الانتاجي (تعداد المواسم الادارية) استخدم على شكل تعداد بينما بقية العوامل المستقلة كانت على شكل ثنائي (binary) .

جدول (12) المتغيرات المتضمنة في تحليل الانحدار اللوغاريتمي و المؤثرة على حدوث التهابات الضرع السارية عند الاغنام

اسم المتغير	رمز المتغير	تصنيف المتغير	تفسير المتغير	شكل التصنيف
المنطقة	REGION	HAMA	مناطق حماه	Binary
		ALGHAB	مناطق الغاب	Binary
		HOMES	مناطق حمص	Binary
		Stations	قطعان المحطات	Binary
زمن الموسم الاداري	LACTLENGTH	<30 days: Lact1	مرحلة مبكرة	Binary
		>30 days: Lact2	مرحلة متأخرة	Binary
وجود إصابات أخرى	OTHERCASE	Presence Infects	خراجات- التهابات عيون- التهابات مفصلية	Binary
		None	لا يوجد	Binary
العمر الانتاجي	prodage	LCATNO	الموسم الاداري	Lactation Number
العمر الانتاجي	Lactation number	Yes or No	تقدم العمرالإنتاجي أو مواسم الادرار خلال سير الحياة	Number

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

3-2-5-3-حساب الحساسية والنوعية لنتائج اختبار كاليفورنيا :

تم حساب الحساسية والنوعية حسب العلاقة التالية

الحساسية = نتائج الإختبار الايجابية الحقيقية ×100 ، النوعية = عدد نتائج الاختبار السلبية المؤكدة

عدد نتائج الاختبار الايجابية للاختبار   عدد النتائج السلبية للاختبار

الحساسية = 385 ÷ 546 ×100=70.51%   ،النوعية =19÷180×100=10.55%

3-2-5-4 – دراسة العلاقة بين نوع الجراثيم المعزولة وقيم CMT

تم دراسة هذه العلاقة من خلال اجراء اختبار نيومن كولس Newman-Keuls حسب البرنامج الاحصائي Statistica,2008 وذلك بادخال قيمCMT ومايقابلها من عزولات جرثومية (تم ادخال رموز رقمية للعزولات الجرثومية 1،2،3،..) للبرنامج.

3-2-5-5- تقدير الخسائر الناجمة عن التهاب الضرع:

تم تقدير الخسائر الناجمة عن التهابات الضرع البسيطة Mild mastitis والتهابات الضرع الشديد Severe mastitis والتهابات الضرع القاتلة Fatal mastitis حسب (Esslemont and Kossaibati.,1995).

1-التهاب الضرع البسيط Mild mastitis : إن التكاليف المباشرة لحالة التهابات الضرع البسيطة أو الخفيفة يمكن أن تقدر كما يلي :

a-تكاليف المعالجة بالصادات= 5×1$ = 5U$

b-أجور الطبيب البيطري = 2× 4$ = 8U$

c-تكاليف الانخفاض في إنتاج الحليب = 20 لتر خلال الموسم × 0.25 $ = 5 U$ d-

تكاليف الانتاج الناجمة عن فترة السحب= 20 لتر خلال الموسم× 0.25 $=5 U$

مجموع التكاليف المباشرة لحالة فردية واحدة من التهابات الضرع البسيطة

U$ 23 = d + c + b + A

وحسب (الشريف والعاني،2001).فإنه يمكن حساب التكلفة الإقتصادية الإجمالية للحيوانات المصابة من خلال العلاقة التالية

الخسارة المتوقعة من المرض = عدد الحيوانات المصابة ×الكلفة الإقتصادية للحيوان

فإذا عدد الأغنام المصابة بالتهاب الضرع البسيط(تحت السريري) في هذه الدراسة هو 385نعجة فإن الخسارة المتوقعة تساوي = 385×23 U$ =U$8855 أي ما يعادل 407330 ليرة سورية

2 – تقدير الخسائر الناجمة عن التهاب الضرع الخطيرة أو الشديدة severe mastitis .

عندما يصبح التهاب الضرع حاداً فإن الطبيب البيطري يعتبر عنصراً أساسياً لمتابعة علاج

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الحالة بالإضافة إلى الازدياد المطرد في الإنتاج. وبهذه الحالة يمكن حساب التكاليف المباشرة الناجمة عن حالة مفردة من التهابات الضرع بشكلها الحادة كما يلي :

A –تكاليف الدواء(الصادات الحيوية) يشمل عصارات ضرع

= 5×1 $ = 5 U$– صادات حيوية جهازية = 1 × 6 $ = 6 U$

B–أجور الطبيب البيطري = 2 زيارتين × 4 $ = 8 U$.

C – تكاليف الانخفاض في إنتاج الحليب = 40 لتر×0.25 U$ = U$10

D – تكاليف الانخفاض في انتاج الحليب الناجمة عن فترة سحب الدواء

= 40 لتر×0.25 U$ = U$10 .

E – تكاليف ارتفاع عامل الخطورة في تنسيق رأس الغنم من القطيع في حالة كانت الإصابة مزمنة وتحولت إلى شكل متكرر .

= 200 U$ × 20% = 40 U$.

الخسارة الإجمالية لنعجة الوحدة A + b + c + e+d = U$79

الخسارة الإجمالية لكافة الحيوانات المصابة بهذه الدراسة= 95×U$79 = U$7505

مايعادل 345230 ليرة سوري

3–تقدير تكاليف الحالة القاتلة لالتهابات الضرع Estimated cost of fatal case of mastitis إن التهابات الضرع فوق الحادة peracute mastitis يمكن أن تكون قاتلة وهذا يمكن أن يقدر كما يلي:

- تكاليف الأدوية تشمل عصارات الضرع = 5× 1 U$ = 5 U$

صادات حيوية جهازيه = 1×6 U$ = 6 U$ و أدوية داعمة(انتي هستامين وكورتيزونات) = 1×U$4 =U$4.

- تكاليف أجور الطبيب (3 زيارات)= 3× 4 U$ = 12 U$.
- تكاليف نفوق رأس الغنم = 1× 200 U$ = 200 U$.

مجموع التكاليف =227 U$.

إذا كان متوسط نسبة التنسيق في قطعان الدراسة هو 7% فإن إجمالي النعاج المنسقة سنوياً بسبب التهاب الضرع = 0.07×4800 =336نعجة

الكلفة الإجمالية الناتجة عن التهابات الضرع القاتلة = 336 × 227 U$=**U$76272**

مايعادل 3508512 ليرة سورية

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الفصل الرابع

4-النتـــــــــــائج

RESULTS

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

4-النتـــــــــــــــائج:

4-1-المشاهدات السريرية:

لوحظ أن النعاج المصابة بالتهاب الضرع السريري كانت تعاني من الألم الشديد وخصوصاً عند لمس الضرع المصاب وكان الضرع متورم، وفي بعض حالات التهاب الضرع السريري كانت النعاج تعاني من ارتفاع في درجة الحرارة وتورم الضرع وازرقاقه والألم عند لمسه(حالات التهاب الضرع الغانغريني) بالإضافة إلى التغير الواضح في لون الحليب وقوامه،بينما كانت النعاج المصابة بالتهاب الضرع المترافق مع التهاب المفاصل وملتحمة العين(متلازمة جفاف الضرع المعدي) تعاني من العرج الشديد وعدم الرؤية وتورم الضرع والتغير الواضح في لون وقوام الحليب. ويظهر الشكل رقم (9) نعجة تعاني التهاب قرنية العين وعدم الرؤية.



صورة رقم (9) نعجة تعاني من التهاب قرنية العين وعدم الرؤية

4-2-نتائج الفحص الحقلي والسريري :

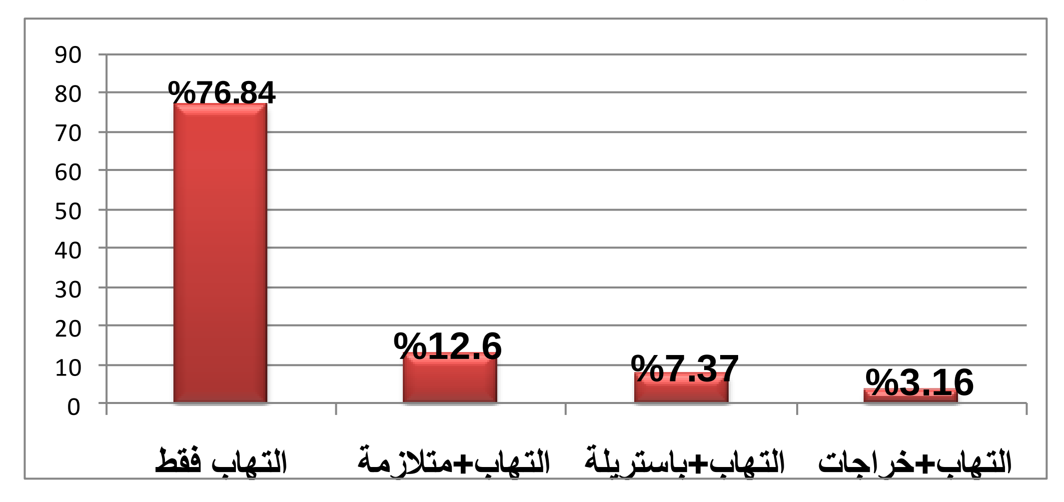
بينت نتائج الدراسة الحقلية وجود(95) حالة إصابة سريرية في مجمل قطعان الدراسة، منها (12) نعجة كانت تعاني من التهاب ضرع مترافق بالتهاب المفاصل والتهاب الملتحمة والقرنية (متلازمة جفاف الضرع المعدي)، حيث بلغ نسبة الإصابة بمتلازمة جفاف الضرع المعدي 12.63%، بينما كانت عدد النعاج التي تعاني من حالات التهاب الضرع السريري ومصابة بخراجات سطحية 3 نعاج (3.16%)، والنعاج التي تعاني من التهاب ضرع وكانت حملانها مصابة بداء الباستريلات 7نعاج (7.37%)، أما عدد النعاج التي كانت تعاني من التهاب ضرع سريري فقط دون وجود آفات أو اصابات أخرى فبلغ 73 نعجة (76.84%).ويبين الجدول رقم (13)والمخطط رقم (3) هذه النتائج.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الجدول(13) نسب حالات التهاب الضرع السريري المترافق مع بعض الحالات الأخرى

التهاب الضرع/نوع الإصابة	العدد	النسبة%
مترافق مع متلازمة جفاف الضرع المعدي	12	12.63
مترافق مع داء الباستريلات	7	7.37
مترافق مع خراجات	3	3.16
بدون إصابات اخرى	73	76.84
المجموع الكلي	95	–

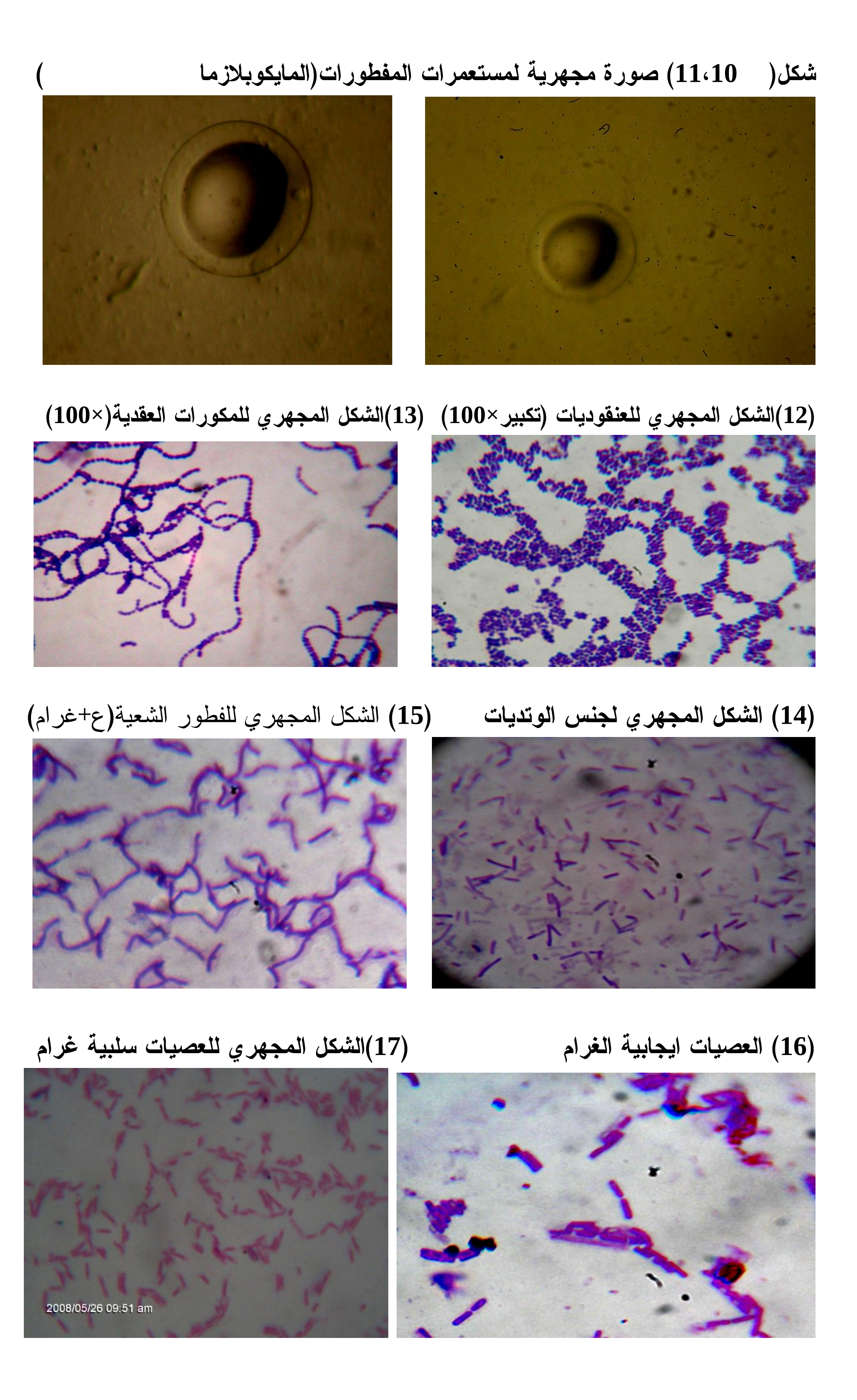
الشكل رقم (3): نسب حالات التهاب الضرع السريري المترافق مع بعض الحالات الأخرى



4-3- نتائج الفحص الجرثومي:

أظهرت نتائج الفحص الجرثومي(العزل الجرثومي،الخواص الشكلية والتلوينية والخواص الزرعية،الاختبارات الكمياحيوية للعزولات الجرثومية)لعينات حليب النعاج المصابة بالتهاب الضرع السريري وتحت السريري عزل وتشخيص الأنواع الجرثومية التالية:المفطورات،العنقودية الذهبية،العنقوديات السالبة للمخثراز،الإشريكية القولونية،الزائفة الزنجارية، المكيرات، المانهيميا المحللة للدم والباستريلة القتالة، العقدية القاطعة للإدرار والعقدية ايبرس، العقدية ديس أجلكتية، المكورات المعوية(العقدية البرازية)، أنواع جنس العصيات ايجابية غرام Bacillus spp، جنس الوتديات والعصيات الشعية والأشكال(10-17) توضح الشكل المجهري والخواص التلوينية للأنواع الجرثومية المعزولة والمشخصة، كما توضح الأشكال(18-34) بعض الإختبارات البيوكميائية المميزة للأنواع الجرثومية المعزولة من عينات حليب النعاج المصابة بالتهاب الضرع.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit



شكل(10،11) صورة مجهرية لمستعمرات المفطورات(المايكوبلازما)

(12)الشكل المجهري للعنقوديات (تكبير×100)

(13)الشكل المجهري للمكورات العقدية(×100)

(14) الشكل المجهري لجنس الوتديات

(15) الشكل المجهري للفطور الشعبية(ع+غرام)

(16) العصيات ايجابية الغرام

(17)الشكل المجهري للعصيات سلبية غرام

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

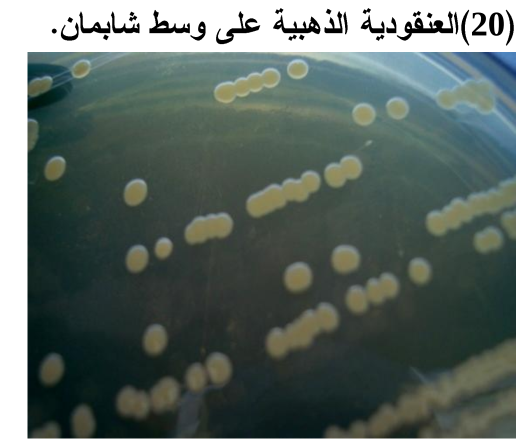
(18) العنقودية الذهبية على الأغار المغذي



(19) الإشريكية القولونية على أغار ماكونكي

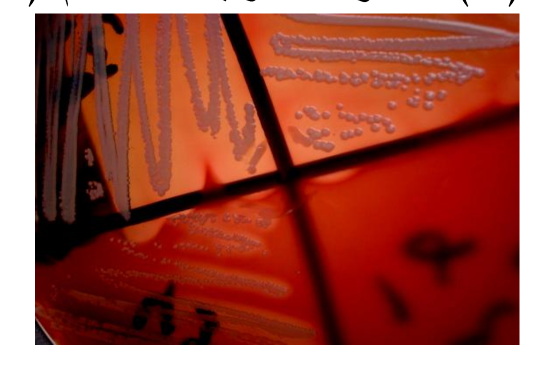


(20)العنقودية الذهبية على وسط شابمان.

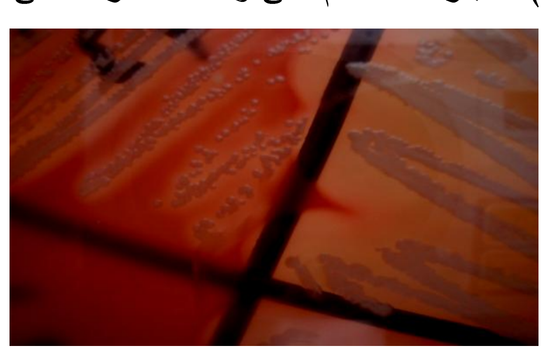


(21) مستعمرات العقدية على الأغار المدمى

(22) مستعمرات العنقودية المحللة للدم



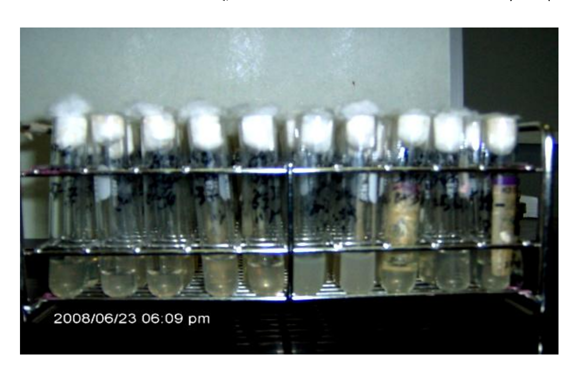
(23) اختبار تحلل الدم على وسط الأغار المدمى



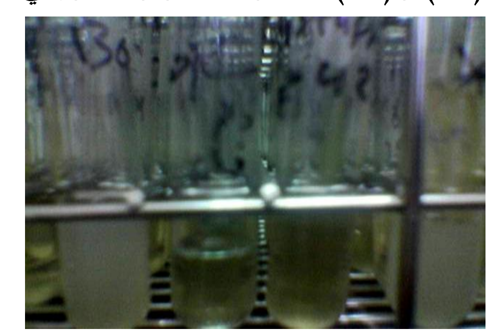
All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

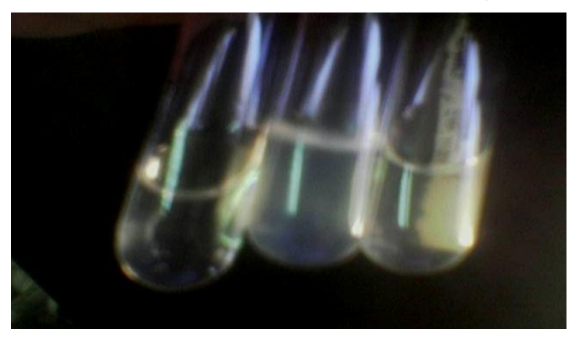
(24)مستعمرات العنقودية الذهبية المحللة لدنا (25) اختبار المخثراز التفريقي بين العنقوديات



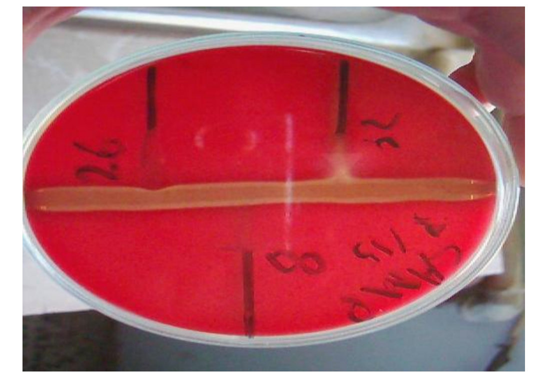


(26) و(27) اختبار المخثراز التفريقي بين العنقوديات



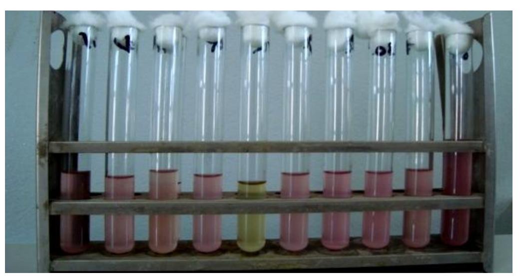


(28) اختبار كامب المميز للعقدية الاجلكتية (29)اختبار تخمير الغلوكوزعند المفطورات

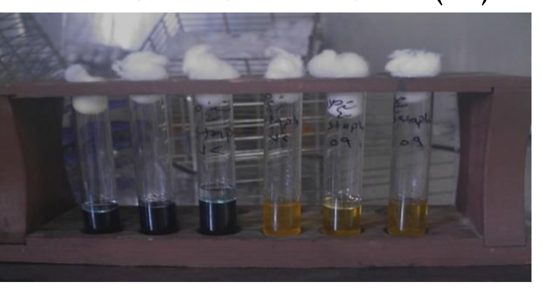




(30) اختبار تخمير السكاكر



(31) اختبار الأكسدة والتخمير



All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

(32) اختبار اليورياز للعنقوديات



(33)اختبار ثلاثي السكر والحديد والاندول،H2S



(34)نتيجة الاختبارات البيوكميائية على العتيدة التشخيصية للعقوديات



4-3- 1- نتائج الفحص الجرثومي لعينات حليب النعاج المصابة بالتهاب الضرع السريري:

أظهرت نتائج الفحص الجرثومي لــ95عينة حليب مأخوذة من نعاج مصابة بالتهاب الضرع السريري بأن جميع العينات كانت ايجابية للفحص والعزل الجرثومي. كما بينت نتائج الفحص الجرثومي بأن عدد العزولات الجرثومية من هذه العينات بلغ 121عزلة تنتمي إلى13نوع من الجراثيم. شكلت عزولات الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع المعدي (المفطورات، العنقودية الذهبية والعقدية القاطعة للإدرار) النسبة العظمى منها، حيث بلغ عدد ذراري هذه الجراثيم 65ذرية (53.72%). شكلت العنقودية الذهبية أعلى نسبة في الإصابة السريرية بالتهاب الضرع حيث عزلت من 49عينة (40.49%)، تلتها العنقوديات السالبة لخميرة المخثراز 29عزولة(23.96%)، المفطورة أجلكتية 10عزولات (8.26%)، العقدية القاطعة للإدرار و العقدية ايبرس والمكيرات الدقيقة والباستريلة القتالة 4عزولات لكل منهما (3.31%). كما تم عزل المانهيميا المحللة للدم والإشريكية القولونية وأنواع جنس الوتديات وأنواع العصيات والزائفة الزنجارية كلا منهما من 3عينات(2.48%)، و عزلت المفطورة الماعزية من عينتين فقط (1.65%).

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

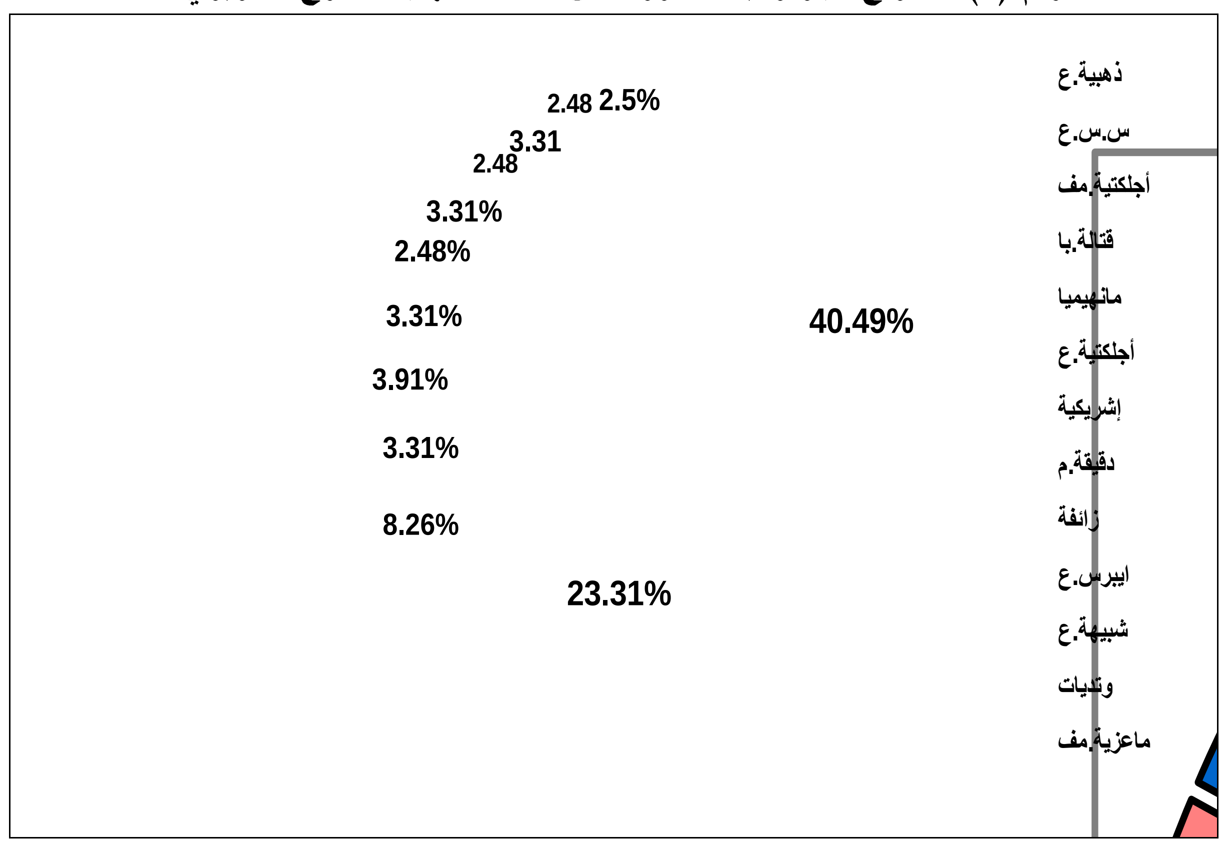
جدول رقم(14):الأنواع الجرثومية المعزولة من حالات التهاب الضرع السريري

الأحياء الدقيقة المعزولة	عدد العزلات	نسبة العزل%	نسبة الانتشار
العنقودية الذهبية	49	40.49	51.58
المكورات العنقودية السالبة للمخثراز	29	23.96	30.5
المفطورة الأجلكتية	10	8.26	10.53
المكيرات الدقيقة	4	3.31	4.21
العقدية القاطعة للإدرار	4	3.31	4.21
العقدية ايبرس	4	3.31	4.21
المانهيميا الحالة للدم	3	2.48	3.16
الباسترلية القتالة	4	3.31	4.21
الإشريكية القولونية	3	2.48	3.16
أنواع جنس الوتديات	3	2.48	3.16
الزائفة الزنجارية	3	2.48	3.16
أنواع جنس العصيات	3	2.48	3.16
المفطورة الماعزية	2	%1.65	2.11
المجموع	121	–	

***ملاحظة: تم حساب نسبة العزل للأنواع الجرثومية المختلفة بقسمة عدد الذراري المعزولة لكل نوع على العدد الكلي للذراري المعزولة لكل الأنواع مضروبا بمائة بالنسبة للعدد الكلي للعزولات الجرثومية مع ملاحظة وجود عزولات مختلطة في بعض العينات**

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الشكل رقم (4): الأنواع الجرثومية المعزولة من حالات التهاب الضرع السريري



كما بلغ عدد العينات التي أعطت عزل جرثومي مفرد 69 عينة (72.63%) من مجموع 95 عينة سريرية، بينما كان مجموع العينات التي أعطت عزل جرثومي مختلط 26 عينة (27.37%). و يوضح الجدول رقم(15) حالة العزل الجرثومي في عينات التهاب الضرع السريري ونوع الجراثيم

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

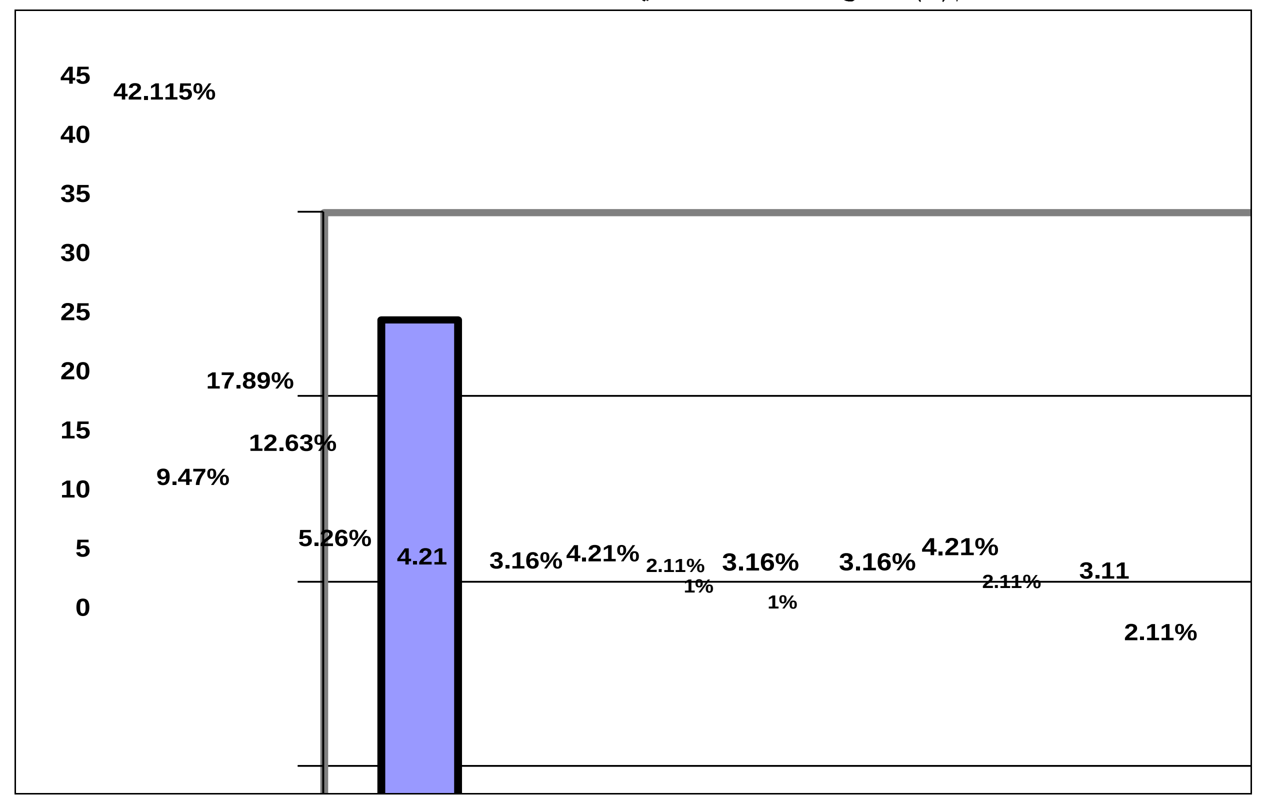
الجدول رقم(15): حالة العزل الجرثومي من عينات التهاب الضرع السريري ونوع الجراثيم

عزل مختلط	العدد	النسبة %	عزل مفرد	العدد	النسبة %
ع.ذهبية+ع.أجلكتية	3	3.16	عنقودية ذهبية	40	42.11
ع.ذهبية+ع.قولونية	1	1.05			
ع.ذهبية+زائفة	1	1.05	عنقودية سالبة.م	17	17.89
ع.ذهبية+مانهيميا	3	3.16			
ع.ذهبية+ع.شبيهات	1	1.05	زائفة زنجارية	2	2.11
ع.أجلكتية+م.دقيقة	1	1.05			
م.دقيقة+زائفة	1	1.05	عقدية ايبرس	3	3.16
م.دقيقة+وتديات	1	1.05			
م.دقيقة+ع.ايبرس	1	1.05	مفطورة أجلكتية	5	5.26
مف.أجلكتية+ع.س	3	5.26			
مف.أجلكتية+ع.شبيهة	2	2.11			
م.ماعزية+ع.س	2	2.11	وتديات	2	2.11
ع.س+با.قتالة	4	4.21			
ع.س+ع.قولونية	2	2.11			
المجموع	26		_	69	

*ملاحظة :تم حساب النسبة المئوية للعزل الجرثومي بالنسبة لعدد العينات

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الشكل رقم(5): نوع العزل الجرثومي والأحياء الدقيقة المعزولة



4-3-2-نتائج الفحص الجرثومي لعينات حليب النعاج السليمة ظاهرياً :

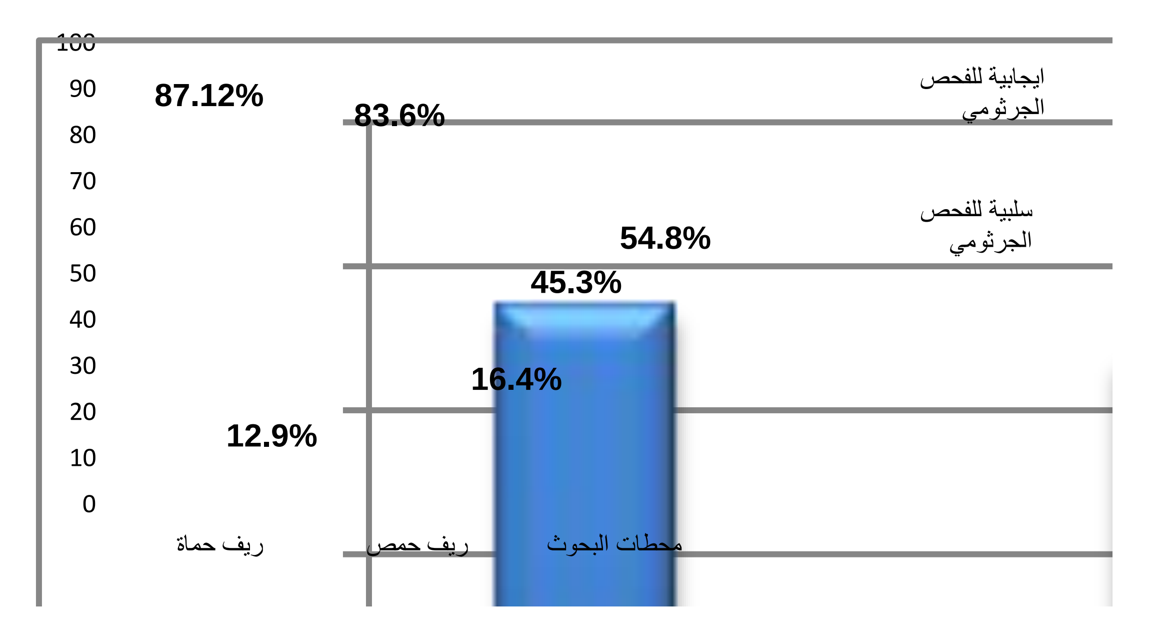
بينت نتائج الفحص الجرثومي لــ 565 عينة مأخوذة من نعاج سليمة ظاهرياً بعد أن خضعت جميع العينات لاختبار **كاليفورنيا CMT** بأن 385 عينة كانت ايجابية للزرع الجرثومي و 180 عينة كانت سلبية للزرع الجرثومي.

الجدول رقم(16): نتيجة الفحص الجرثومي لعينات الحليب النعاج السليمة ظاهرياً .

منطقة الدراسة	عدد عينات حليب النعاج السليمة ظاهرياً	عدد العينات الايجابية للفحص الجرثومي	النسبة المئوية%	عدد العينات السلبية للفحص الجرثومي	النسبة المئوية%
ريف حماة	163	142	87.12	21	12.88
ريف حمص	159	133	83.6	26	16.4
قطعان المحطات	243	110	45.27	133	54.73
المجموع	565	385	68.14	180	31.86

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الشكل رقم(6): نتائج الفحص الجرثومي لعينات حليب النعاج السليمة ظاهرياً



كماأظهرت نتائج الفحص الجرثومي أن عدد عزولات الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع المعدي[المفطورات، العنقودية الذهبية والعقدية القاطعة للإدرار بلغ 34 عزلة وبنسبة 7.76% من أصل 438 عزلة جرثومية معزولة من حالات التهاب الضرع تحت السريري.

كانت أهم الأنواع الجرثومية المعزولة هي المكورات العنقودية السالبة للمختراز وشكلت النسبة العظمى للعزولات الجرثومية حيث بلغ عدد عزولاتها 229 عزلة(52.28 %)، الزائفة الزنجارية49عزولة (11.18%)، المكيرات الدقيقة 48 عزولة (10.95%)، العقدية إيبرس 25عزلة (5.71%)، العقدية ديس أجلكتية 24 عزولة (5.48%)، العقدية القاطعة للإدرار 19 عزولة (4.34%)، العنقودية الذهبية 13 عزولة (2.97%)، الاشريكية القولونية 12 عزولة (2.74%)، أنواع جنس العصيات 7عزولات(1.59%)، العقدية البرازية 6عزولات(1.37%)، أنواع جنس الوتديات عزلتين(0.46%)، أنواع جنس الفطور الشعية عزلتين(0.46%)، المفطورة الأجلكتية عزلة واحدة(0.23%) و المفطورة الماعزية عزلة واحدة (0.23%). ويوضح ذلك الجدول رقم(17) والشكل رقم(7).

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

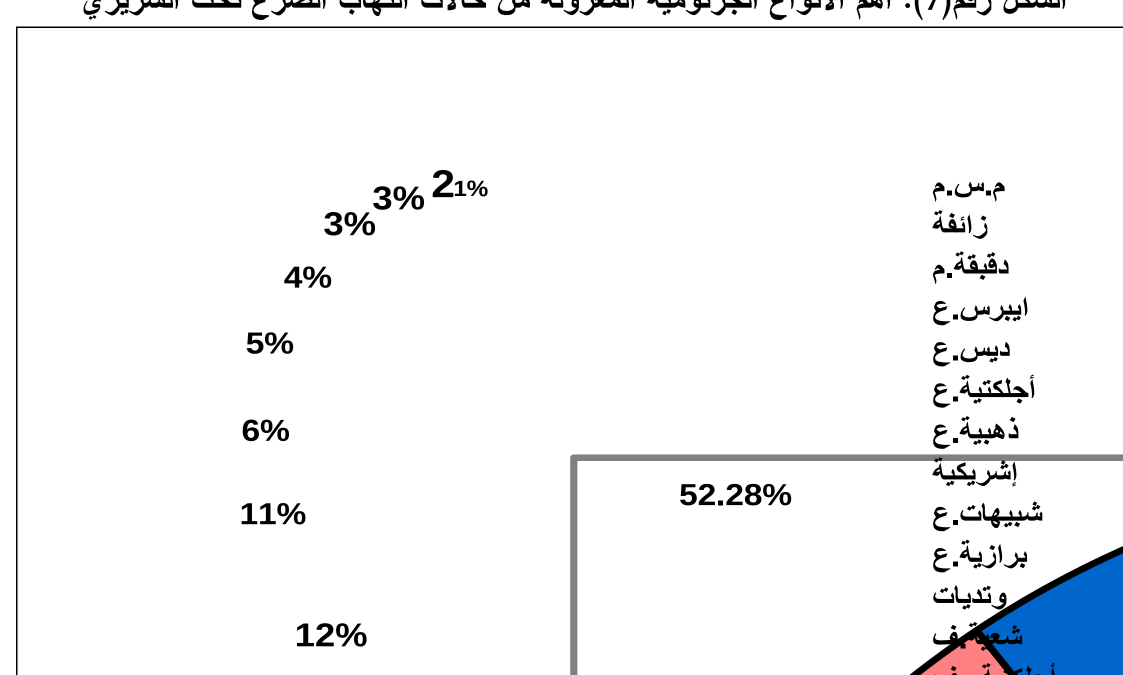
جدول رقم(17): الأنواع الجرثومية المعزولة من حالات التهاب الضرع تحت السريري .

الأحياء الدقيقة المعزولة	العدد	النسبة %	نسبة الإنتشار
المكورات العنقودية السالبة للمخثراز	229	52,28	40.53
الزائفة الزنجارية	49	11.18	8.67
المكيرات الدقيقة	48	10,96	8.49
العقدية إيبرس	25	5.71	4.42
العقدية ديس أجلكتية	24	5.48	4.24
العقدية القاطعة للإدرار	19	4.34	3.36
العنقودية الذهبية	13	2,97	2.3
الاشريكية القولونية	12	2.74	2.12
أنواع جنس العصيات	7	1.59	1.24
العقدية البرازية	6	1.37	1.06
أنواع جنس الوتديات	2	0.46	0.35
أنواع جنس الفطور الشعية	2	0.46	0.35
المفطورة الأجلكتية	1	0.23	0.18
المفطورة الماعزية	1	0.23	0.18
المجموع	438	100	–

تم حساب النسبة المئوية لأنواع الأحياء الدقيقة المعزولة بالنسبة للعدد الكلي للعزولات الجرثومية .

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الشكل رقم(7): أهم الأنواع الجرثومية المعزولة من حالات التهاب الضرع تحت السريري



4-3-3- مسببات التهاب الضرع المعدي ونسب عزلها من حالات التهاب الضرع السريري وتحت السريري:

شكلت عزولات الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع المعدي(المفطورات، العنقودية الذهبية و العقدية القاطعة للإدرار) النسبة العظمى للعزولات الجرثومية من حالات التهاب الضرع السريري عند النعاج المشمولة بالدراسة، حيث بلغ عدد ذراري هذه الجراثيم 65 ذرية (53.72%) من المجموع الكلي للعزولات الجرثومية البالغ 121 عزلة، وقد احتلت العنقودية الذهبية الصدارة في نسبة العزل حيث بلغ عدد عزولاتها 49 عزلة وبنسبة 40.49%، تلتها المفطورة الأجلكتية 10عزلات (**8.26%**)، العقدية القاطعة للادرار 4 عزلات(3.31%) و المفطورة الماعزية عزلتين(1.65%). بينما بلغ عدد عزولات الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع المعدي من حالات التهاب الضرع تحت السريري 34عزلة وبنسبة 7.76%من المجموع الكلي للعزولات الجرثومية البالغ عددها 438عزلة. احتلت العقدية القاطعة للادرار المرتبة الأولى بين هذه المسببات حيث بلغ عدد عزولاتها 19 عزلة(4.34%)، تلتها العنقودية

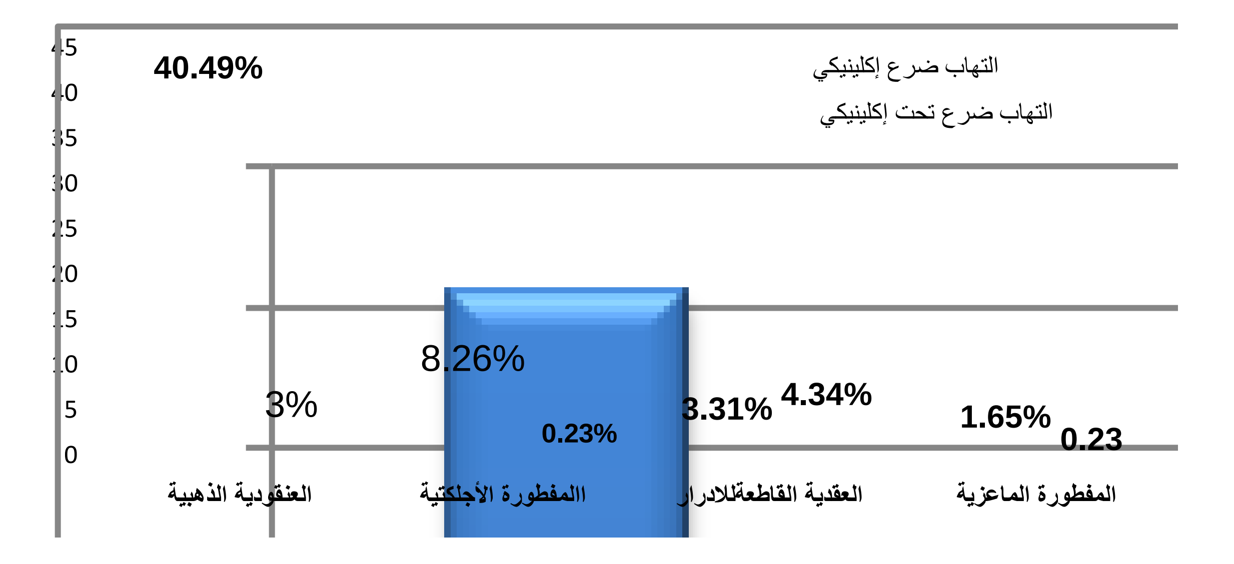
All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الذهبية من حيث عدد العزولات 13 (3%)، المفطورة الأجلكتية والمفطورة الماعزية عزلة واحدة لكل منهما (0.23%).

الجدول رقم(18): المسببات المعدية لالتهاب الضرع من حالات التهاب الضرع السريري وتحت السريري.

نوع الجرثومة	التهاب الضرع السريري		التهاب الضرع تحت السريري	
	عدد العزلات	النسبة المئوية	عدد العزلات	النسبة المئوية
العنقودية الذهبية	49	40.49	13	3
المفطورة الأجلكتية	10	8.26	1	0.23
العقدية القاطعة للادرار	4	3.31	19	4.34
المفطورة الماعزية	2	1.65	1	0.23
المجموع	65	53.72	34	7.76

الشكل رقم (8): نسب عزل المسببات المعدية لالتهاب الضرع السريري وتحت السريري



All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

4-3-4- نتائج التصنيف الجرثومي للمكورات العنقودية السالبة للمختراز من حالات التهاب الضرع السريري وتحت السريري :

أظهرت نتائج التصنيف الجرثومي لعزولات العنقوديات السالبة للمختراز أن أهم أنواع المكورات العنقودية السالبة للمختراز والمعزولة من حالات التهاب الضرع السريري هي العنقودية البشروية 19 عزلة(15.70%)، العنقودية سيمولانس 5 عزلات (4.13%)، العنقودية هيكوس 3 عزلات (2.48%)، العنقودية الصباغية عزلتين (1.65%). بينما كانت أهم أنواع العنقوديات السالبة للمختراز المعزولة من حالات التهاب الضرع تحت السريري هي العنقودية البشروية 119 عزلة (27.17%%)، العنقودية سيمولانس 62 عزلة (14.15%)، العنقودية هيكوس 36عزلة (8.22%)،العنقودية أكسلوس12 عزلة(2.74%).

ويوضح الجدول رقم (19) التصنيف الجرثومي للمكورات العنقودية السالبة للمختراز ونسب عزلها من حالات التهاب الضرع بشكليه.

الجدول رقم(19): التصنيف الجرثومي للمكورات العنقودية السالبة للمختراز

نوع م.ع. السالبة لخميرة المختراز	العدد الكلي للعزولات الجرثومية لإلتهاب الضرع السريري (121 عزلة)		العدد الكلي للعزولات الجرثومية لإلتهاب الضرع تحت السريري(438 عزلة)	
	العدد	النسبة المئوية%	العدد	النسبة المئوية%
م. العنقودية البشروية	19	15.70	119	27.17
م. العنقودية سيمولانس	5	4.13	62	14.15
م. العنقودية هيكوس	3	2.48	36	8.22
م. العنقودية أكسلوس	-	-	12	2.74
م. العنقودية الصباغية	2	1.65	-	-
المجموع	29	23.96	229	52.28

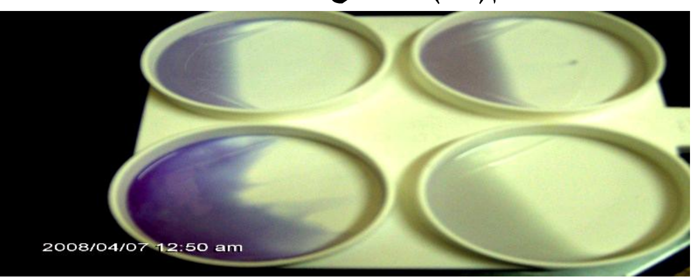
ملاحظة: تم حساب النسبة المئوية وفقاً للعدد الكلي للعزولات الجرثومية المعزولة من حالات التهاب الضرع بنوعيه.

4-5- نتائج اختبار كاليفورنيا CMT لعينات حليب النعاج السليمة ظاهريا:

أظهرت نتائج اختبار كاليفورنيا لعينات الحليب المأخوذة من نعاج سليمة ظاهريا أن 19عينة كانت سلبية (أخذت القيمة صفر) لاختبار كاليفورنيا ،بينما التي كانت ايجابية ضعيفة 210 عينة (CMT =1) و 253 عينة كانت ايجابية لــCMT وأخذت القيمة 2 وعدد العينات التي أخذت القيمة 3 83 عينة(CMT ≥ 2).ويوضح الجدول رقم (20) والشكل رقم(9) هذه النتائج.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الصورة رقم(35): توضح نتيجة اختبار كاليفورنيا



الجدول رقم(20): نتيجة اختبار كاليفورنيا مقارنة مع نتائج الفحص الجرثومي للعينات

درجة CMT	نتيجة CMT	عدد العينات	النسبة المئوية	نتيجة الزرع الجرثومي	
				ايجابي	سلبي
صفر	سلبي	19	%3.36	%0	19(100%)
1	ايجابي ضعيف(+)	210	%37.17	60(28.57%)	150(71.43%)
2	ايجابي(++)	253	%44.77	242(95.65%)	11(4.35%)
3	ايجابي قوي(+++)	83	%14.69	83(100%)	%0

الشكل رقم(9): نتائج اختبار كاليفورنيا مقارنة مع الزرع الجرثومي

120
100
80
60
40
20
0

100%
95.65%
44.8%
37.17%
28.57%
14.69%
3.36%

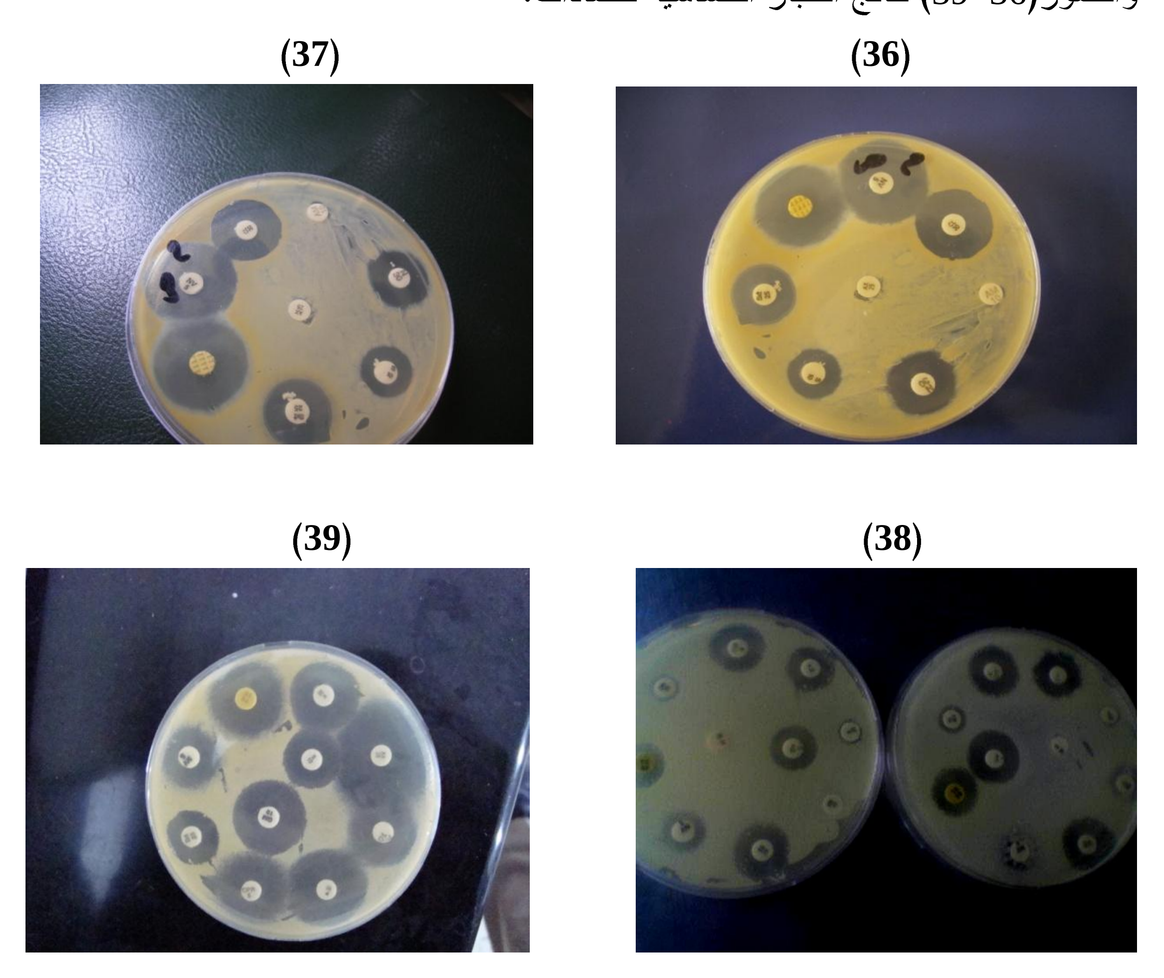
نتيجة CMT
الزرع ايجابي

سلبي(صفر) ايجابي ضعيف(+١) ايجابي (++٢) ايجابي قوي(+++٣)

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

4-6- نتائج اختبار التحسس للصادات:

أظهرت نتائج اختبارالتحسس للصادات التي أجريت على 212 عزلة مكورات عنقودية ومكورات عقدية ومكيرات دقيقة معزولة من حالات التهاب الضرع السريري وتحت السريري(30 عزلة عنقودية الذهبية، 50 عزلة عنقودية بشروية، 40 عزلة عنقودية سيمولانس، 20 عزلة عنقودية هيكوس، 2 عزلة عنقودية كرموجينس، 10 عزلات عنقودية اكسيلوز،25 عزلة مكيرات دقيقة،10 عزلات عقدية أجلكتية،10 عزلات عقدية ديس أجلكتية ، 10 عزلات عقدية ايبرس و 5 عزلات عقدية برازية(فكاليس))أن الصادات الأكثر فعالية هي التتراسكلين وبنسبة 68.4 % يليه كو تريماكسازول (كولي بريم) 67.5% ، انروفلوكساسين 63 % ، جنتامايسين 52.4 % ، كانامايسين 48 %، لنكومايسين 40 %، نوفوبيوسين 31 % والأموكسي سيكلين 13% . وكانت الصادات الأقل تأثيراً على الجراثيم المعزولة من حالات التهابات الضرع السريري وتحت السريري هي البنسلين حيث بلغت نسبة المقاومة له 93% والأمبسلين بنسبة 92% والأموكسي سيكلين 87%. ويوضح الجدول رقم (21)،(22) والصور(36-39) نتائج اختبار الحساسية للصادات.



(36) (37)

(38) (39)

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الجدول رقم (21): نتائج اختبار تحسس العنقوديات والعقديات والمكيرات للصادات

نوع العزولات المختبرة	العدد	P *S	AM *S	AX *S	GN *S	ENR *S	TE *S	NV *S	K *S	SXT *S	LN *S
العنقودية الذهبية	30	0	0	0	20	22	21	13	18	17	12
	%	0	0	0	67	73	70	43	60	57	40
العنقودية الهشروية	50	5	0	0	25	35	38	15	30	41	21
	%	10	0	0	50	70	76	30	60	82	42
العنقودية سيمولانس	40	0	0	0	15	28	26	16	16	30	18
	%	0	0	0	37.5	70	65	40	40	75	45
العنقودية هيكوس	20	0	0	0	11	14	15	8	16	15	9
	%	0	0	0	55	70	75	40	80	75	45
العنقودية الصباغية	2	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1
	%	0	0	0	50	50	50	0	0	50	50
العنقودية اكسيلوز	10	0	0	0	5	7	8	1	3	7	4
	%	0	0	0	50	70	80	10	30	70	40
م.دقيقة	25	0	0	13	14	19	20	12	9	14	10
	%	0	0	52	56	76	80	48	36	56	40
العقدية الأجلكتية	10	3	4	3	5	2	6	0	2	6	2
	%	30	40	30	50	20	60	0	20	60	20
العقدية ديس أجلكتية	10	3	4	3	5	1	4	0	3	4	3
	%	30	40	30	50	10	40	0	30	40	30
العقدية ايبرس	10	4	5	4	6	2	2	0	3	5	2
	%	40	50	40	60	20	20	0	30	50	20
العقدية البرازية	5	2	3	4	4	2	4	0	2	3	2
	%	40	60	80	80	40	80	0	40	60	40
المجموع	212	17	16	27	111	133	145	65	102	143	84
	%	8	7.5	13	52.4	63	68.4	31	48	67.5	40

كما أظهرت نتائج اختبار الحساسية للصادات المجراه على37 عزلة جراثيم سالبة الغرام معزولة من حالات التهاب الضرع السريري وتحت السريري(10عزولات اشريكية قولونية، 7عزولات مانهيميا محللة للدم و 20 عزلة زائفة زنجارية) أن الصادات الأكثر فعالية ضد الجراثيم المذكورة هي الجنتامايسين(81.08%)، النيومايسين(78.38%)، الكوليستين(73%)، التتراسكلين(64.86%) والانروفلوكساسين(**59.45**) وتريمثوبريم–سلفاميثوكسازول(**59.45**). بينما كان الأمبسيلين الصاد الحيوي الأقل فعالية(**24.32%**).

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

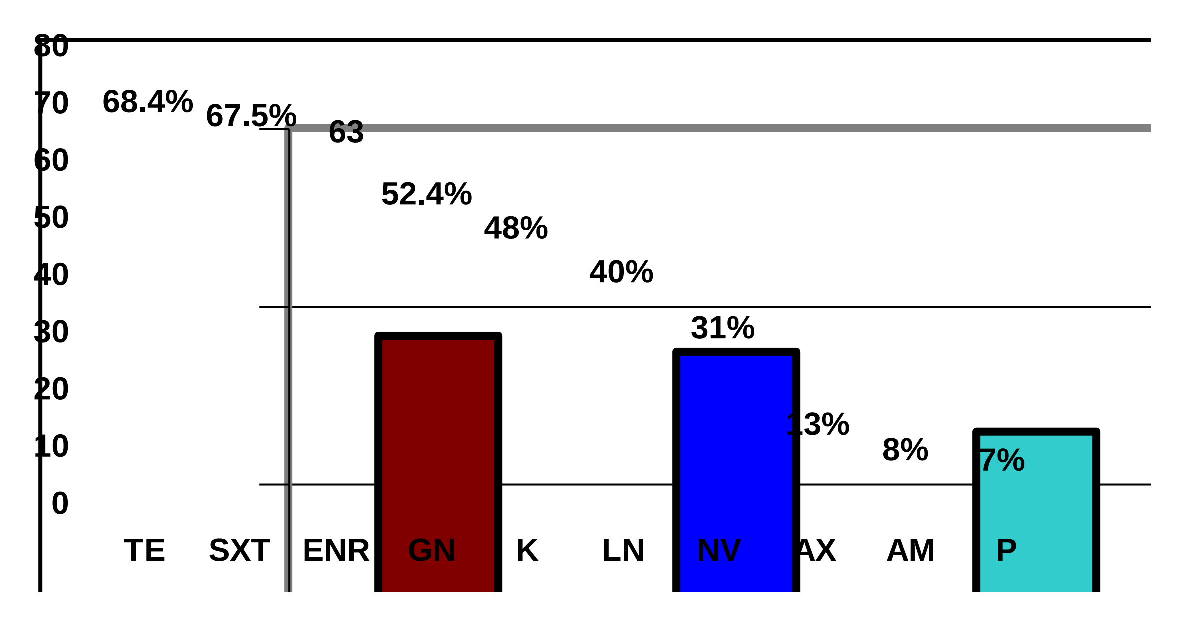
الجدول رقم(22): نتائج اختبار تحسس الجراثيم سلبية غرام للصادات

نوع العزلات المختبرة	العدد	AM *S	GN *S	N *S	COL *S	TE *S	ENR *S	SXT *S
الباستريلة القتالة	4	1	2	1	0	3	4	3
	%	25	50	25	0	75	100	75
الاشريكية القلونية	10	0	8	9	9	6	4	6
	%	0	80	90	90	60	40	60
الباستريلة المحللة للدم	3	2	2	2	0	3	3	2
	%	66.7	66.7	66.7	0	100	100	66.7
الزائفة الزنجارية	20	7	16	14	15	13	11	10
	%	35	80	70	75	65	55	50
المجموع	37	9	30	29	27	24	22	22
	%	24.32	81.08	78.38	73	64.86	59.45	59.45

ملاحظة : **P** =بنسلين، AM = أمبسلين، AX= أموكسي سيكلين، GN= جنتامايسين، ENR =انروفلوكساسين، TE= تتراسكلين، NV = نوفوبيوسين، K = كانامايسين، SXT = كو- تريموكسازول، LN = لنكومايسين، N= نيومايسين، COL = كوليستين.

*S = الحساسية للصاد الحيوي.

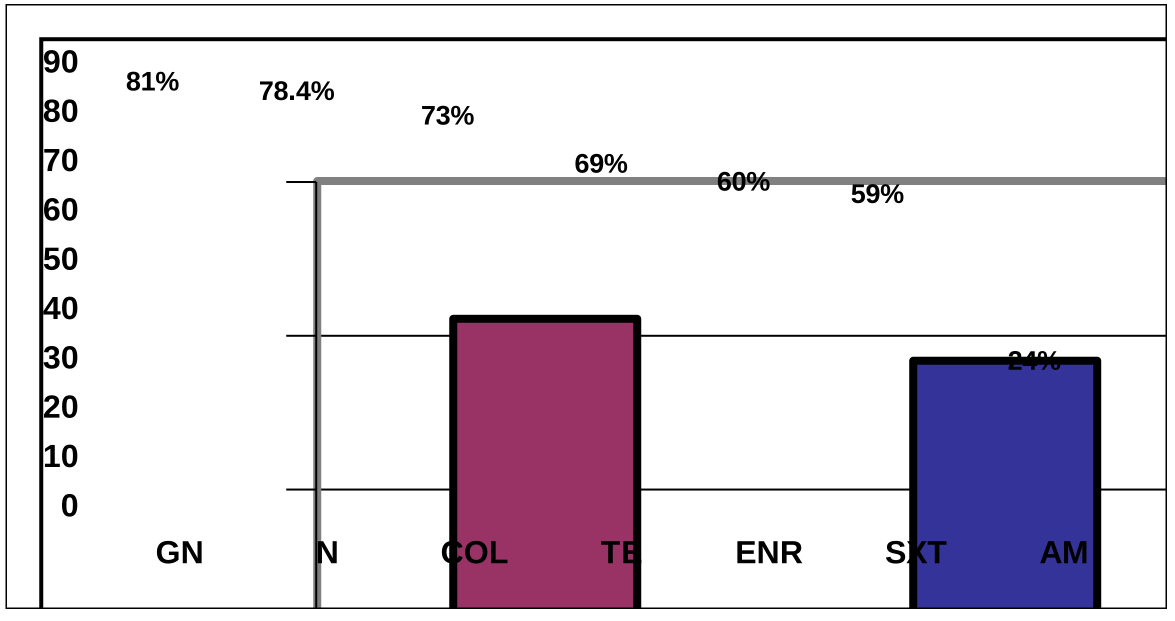
الشكل رقم(10): تحسس المكورات ايجابية غرام للصادات



All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit



الشكل رقم(11): تحسس العصيات سلبية غرام المعزولة للصادات



4-7- نتائج التحاليل الإحصائية والوبائية:

4-7-1- نتائج التحاليل الوبائية:

4-7-1-1- نتائج انتشار التهاب الضرع المعدي حسب المنطقة:

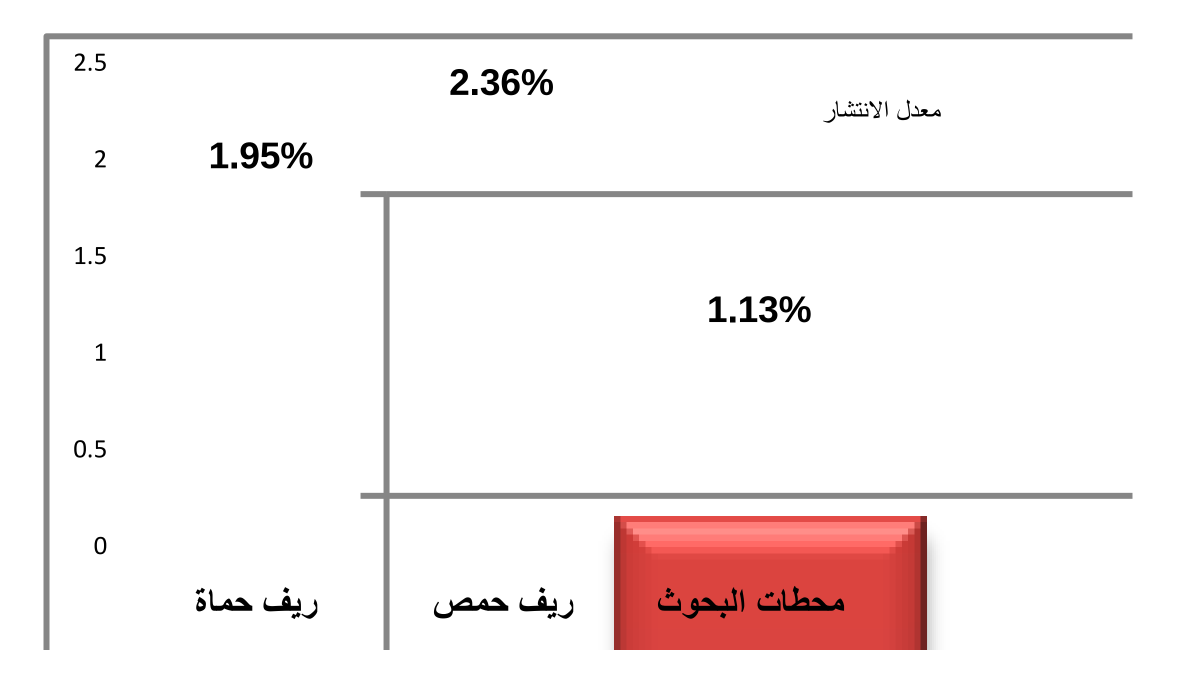
أظهرت نتائج التحاليل الوبائية أن انتشار التهاب الضرع المعدي حسب المنطقة بلغ في ريف حماه 1.95 % وفي ريف حمص 2.36% وفي قطعان المحطات 1 % بينما بلغت نسبة الانتشار العام لالتهاب الضرع المعدي بكل قطعان الدراسة 1.81 % أي ما يساوي 2% .

الجدول رقم (23) نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي حسب المنطقة

المنطقة	إجمالي الأغنام /منطقة	عدد حالات التهاب الضرع المعدي	نسبة الانتشار
ريف حماة	**1900**	37	1.95
ريف حمص	**1400**	33	2.36
قطعان المحطات	**1500**	17	1.13
المجموع	**4800**	87	
الانتشار العام			1.81

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الشكل رقم (12): نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي حسب المنطقة



4-7-1-2- انتشار حالات التهاب الضرع المعدي حسب العمر الإنتاجي:

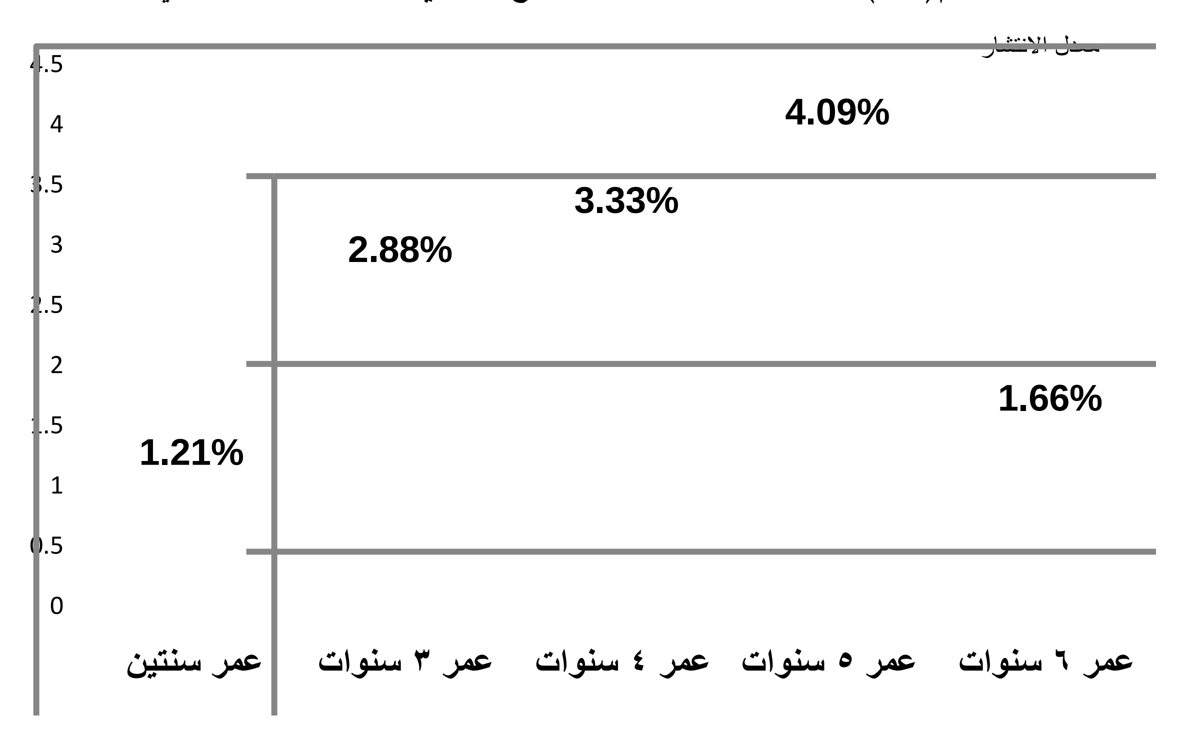
بلغ نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي عند النعاج بعمر سنتين 1.21% ، و بعمر 3 سنوات 2.88%، بعمر 4 سنوات 3.33%، بعمر 5 سنوات 4.09% وبعمر 6 سنوات 1.66%.

الجدول رقم(24): نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي حسب العمر الإنتاجي لـــ660 نعجة

العمر الإنتاجي للنعاج / سنة	عدد حالات التهاب الضرع المعدي	نسبة الانتشار
2	8	1.21
3	19	2.88
4	22	3.33
5	27	4.09
6	11	1.66
المجموع	87	
الانتشار العام		13.18

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الشكل رقم(13): نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي حسب العمر الانتاجي.



4-7-1-3- نسبة الانتشار حسب الشكل الالتهابي :

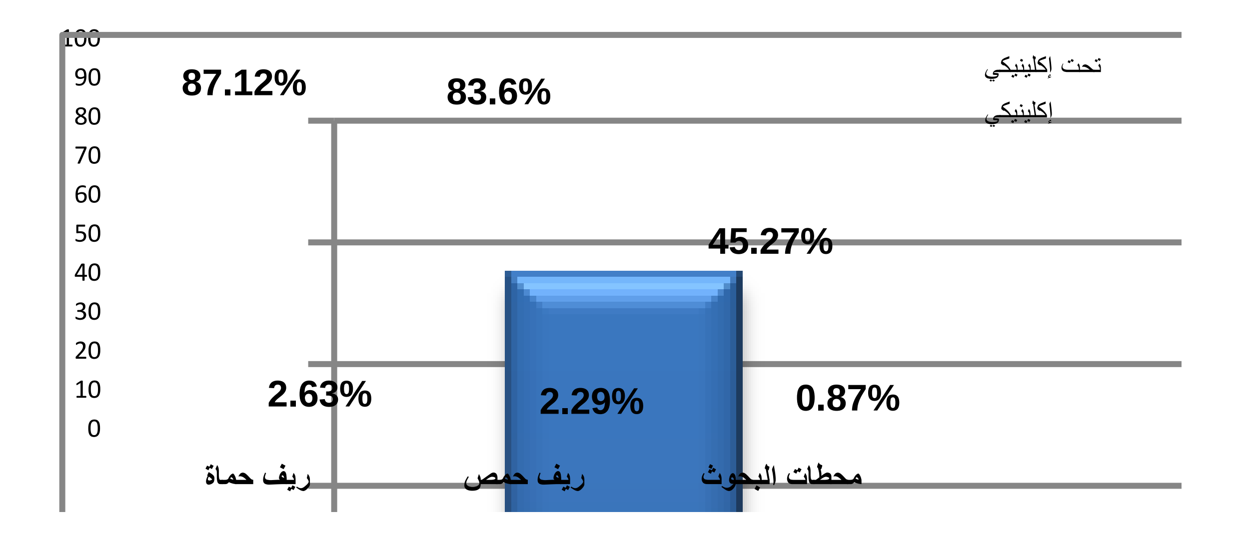
بينت نتيجة حساب نسبة الانتشار أن انتشار التهاب الضرع السريري بلغ عند قطعان الدراسة في المنطقة الوسطى 2% ،بينما بلغ لحالات التهاب الضرع تحت السريري بكل قطعان الدراسة **68.14%**. ويوضح الجدول رقم (24) والمخطط رقم (12) نسبة انتشار التهاب الضرع السريري وتحت السريري .

الجدول رقم(25): نسبة انتشار التهاب الضرع السريري، تحت السريري.

منطقة الدراسة	عدد الأغنام	عدد الحالة السريريۃ	نسبة الانتشار لالتهاب الضرع السريري	عدد العينات السليمة ظاهريا	عدد الحالات تحت السريريۃ	نسبة الانتشار لالتهاب الضرع تحت السريري
ريف حماة	1900	50	2.63	163	142	87.12
ريف حمص	1400	32	2.29	159	133	83.6
قطعان المحطات	1500	13	0.87	243	110	45.27
المجموع	4800	95		565	385	
الانتشار العام	–	–	1.98			68.14

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الشكل رقم (14) انتشار التهاب الضرع السريري وتحت السريري



4-7-1-4- معدل الحالة القاتلة حسب المنطقة خلال فترة الدراسة:

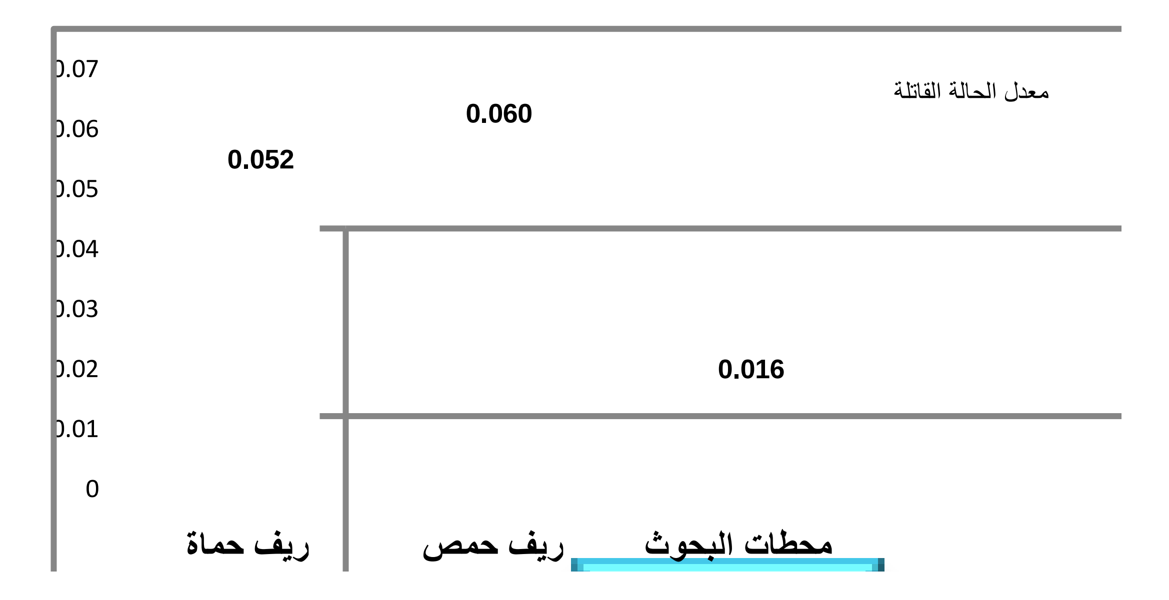
أظهرت نتيجة حساب نسبة الحالة القاتلة أنه بلغ عند قطعان الدراسة في ريف حماة **(0.052)**، ريف حمص **0.060** وقطعان المحطات(0.016) ،وبلغ النسبة العام للحالة القاتلة عند مختلف القطعان في المنطقة الوسطى **0.13** .يبين الجدول رقم (26) والشكل رقم(15)معدل الحالة القاتلة.

الجدول رقم(26): معدل الحالة القاتلة عند قطعان الدراسة في المنطقة الوسطى.

المنطقة	عدد الاغنام	عدد النعاج المصابة بالتهاب الضرع السريري وتحت السريري	عدد الحالات القاتلة بسبب التهاب الضرع	نسبة الحالة القاتلة
ريف حماة	1900	192	10	0.052
ريف حمص	1400	165	10	0.060
قطعان المحطات	1500	123	2	0.016
المجموع	4800	480	22	
النسبة العام للحالات القاتلة				0.13

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الشكل رقم (15): معدل الحالة القاتلة بسبب التهاب الضرع المعدي.



4-7-2-نتائج تحليل عوامل الخطورة المرافقة لالتهاب الضرع:

نتائج نموذج الانحدار اللوغاريتمي لحدوث التهابات الضرع المعدية عند الأغنام:

تم إجراء دراسة الانحدار اللوغاريتمي من خلال ما يعرف بالدراسة المرحلية المتدرجة Stepwise Analysis وذلك من خلال استخدام اختبار G الإحصائي ويوضح الجدول(27) نتائج الانحدار اللوغاريتمي المتعدد لتأثير عوامل الخطورة على حدوث التهابات الضرع المعدية عند الأغنام.

جدول رقم(27): نتائج الانحدار اللوغاريتمي المتعدد لتأثير عوامل الخطورة على التهابات الضرع المعدية عند الأغنام

المرحلة الأولى.

رمز المتغير	معامل المتغير	الخطأ المعياري
Constant	0.44251	0.12446
Hama	1.07384	0.28848
Homes	0.89533	0.22264
Stations	1.02455	0.23452
Alghab	1.13484	0.28104

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المرحلة الثانية

الخطأ المعياري	معامل المتغير	رمز المتغير
0.12446	0.44251	Constant
0.29339	1.12723	Hama
0.27852	1.61664	Homes
0.102242	1.62123	Stations
0.29548	1.29310	Alghab
0.75255	-4.44902	LACT 1
4.2311	1.53232	LACT 2

المرحلة الثالثة

الخطأ المعياري	معامل المتغير	رمز المتغير
0.12448	0.44251	Constant
0.29419	1.08989	Hama
0.23142	1.39234	Homes
0.12342	1.401234	Stations
0.29659	1.23715	Alghab
0.77037	-4.39892	LACT 1
0.22113	1.39233	LACT 2
18.0209	7.24682	OtherCases

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المرحلة الرابعة و الأخيرة

الخطأ المعياري	معامل المتغير	رمز المتغير
36.6021	**9.43830**	**Constant**
0.30212	**0.92335**	**Hama**
0.29079	**1.30840**	**Homes**
0.23415	**1.32172**	**Stations**
0.30714	**1.00987**	**Alghab**
0.78996	**-3.47669**	**LACT 1**
0.23451	**0.95732**	**LACT 2**
17.9514	**7.18092**	**OtherCases**
0.08218	**0.39925**	**LACT NO**

Constant =ثابت، LACT 1= مرحلة ادرار الأولى(1–30يوم بعد الولادة)، LACT 2= مرحلة ادرار ثانية(بعد 30 يوم بعد الولادة)، OtherCases =وجود حالات مرضية أخرى.

الجدول رقم(28): قيم P الاحتمالية اعتماداً على اختبار G الإحصائية.

قيمة P	درجة الحرية	مربع كاي x	اختبار G الإحصائية بين النماذج
0.00000	1	70.78	الموديل الأول و الموديل الثاني
0.00000	2	27	الموديل الثاني و الثالث
0.01857	3	10	الموديل الثالث و الرابع

من الجدول المذكور أعلاه تم حساب تناسب الأفضلية التراجحي OR اعتماداً على القانون التالي (Eq1) و حسب الباحث (Martin, 1987) من الجدول (28)

Eq (1) : 95%CI of Ln(OR)=Coefficient $\pm$ 1.96

Lower bound of 95%of OR =Antilog of lower bound of 95% CI of LnOR

Upper bound of 95%of OR =Antilog of Upper bound of 95% CI of LnOR

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

ويوضح الجدول (29) نتائج تناسب الأفضلية التراجحي لنتائج الانحدار اللوغاريتمي لتأثير عوامل الخطورة المؤثرة على الإصابة بالتهابات الضرع المعدية عند الأغنام.

الجدول رقم(29): نتائج تناسب الأفضلية التراجحي لعوامل الخطورة المؤثرة على التهابات الضرع السارية عند الأغنام

Odds Ratio تناسب الأفضلية	رمز المتغير
2.52	Hama
3.70	Homes
2.00	Stations
2.75	Alghab
0.00	Lact 1
2.60	Lact 2
13.14	OtherCases
1.49	Lact No.

تم استبعاد عامل التغذية وعامل نوع التربية سواء كانت سرحية أو نصف مغلقة أو مغلقة عن نموذج الدراسة لأنه ليس لها تأثير معنوي على انتشار التهاب الضرع المعدي عند الأغنام لأن قيمة كانت P<0.05. أما بالنسبة للعمر الإنتاجي والمنطقة والمرحلة الإنتاجية(مرحلة الإدرار) ووجود إصابات أخرى مرافقة لالتهاب الضرع عند النعاج الحلوب فقد كانت قيمة 0.05>P أي أن لها تأثير معنوي على حدوث التهاب الضرع وبالتالي فهي مؤثرة على انتشار التهاب الضرع المعدي عند قطعان أغنام الدراسة.

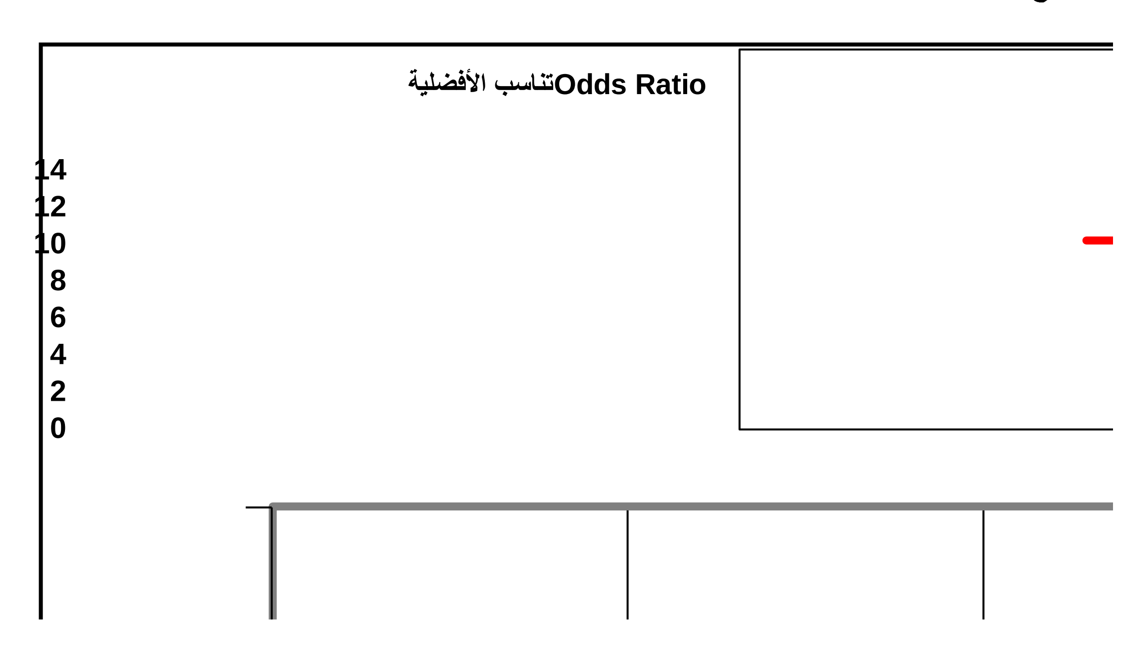
بالرجوع إلى الجدول(29) الذي يوضح نتائج تناسب الأفضلية التراجحي لعوامل الخطورة المؤثرة على التهاب الضرع المعدي عند الأغنام و حسب (Martin, 1987) و(Alomar.,2005) فيمكن تفسير قيم تناسب الأفضلية التراجحي(0R) كما يلي: إذا كانت قيمة 0R ≈ 1 (قريبة من الواحد) فإنه من غير المحتمل أن التعرض لعامل الخطورة مترافق مع حدوث المرض . أما إذا كانت قيمة 0R أكبر من 1 فإن احتمالية التعرض لعامل الخطورة تترافق مع زيادة حدوث المرض ، فكلما كانت قيمة 0R أكبر من الواحد فإن هناك ترافق قوي بين هذا العامل المشتبه وخطورة حدوث المرض والذي يفسر العلاقة بين المسبب والعوامل

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المؤثرة المرافقة. وبالنظر إلى قيم تناسب الأفضلية التراجحي (OR) نجد أن قيمة OR كانت عند قطعان أغنام ريف حماة 2.52، عند قطعان أغنام ريف حمص 3.7، عند قطعان أغنام الغاب 2.75 و كانت عند قطعان أغنام محطات البحوث هي الأدنى(OR=2) مقارنة بالقطعان السرحية في المناطق المذكورة آنفاً وبالتالي فإن عامل المنطقة يلعب دوراً ايجابياً في زيادة خطورة الإصابة بالتهاب الضرع المعدي عند الأغنام وخصوصاً بالنسبة لريف حمص والغاب وريف حماة، إضافة إلى العوامل الأخرى المتمثلة بوجود الحالات المرضية الأخرى (وجود الخراجات، اصابة بداء الباستريلات، التهاب مفاصل والتهاب العيون) فقد كانت قيمة OR لهذا العامل عالية (OR =13.14) وكان أكثر عوامل الخطورة تأثيراً على حدوث التهاب الضرع.

زادت حالات الإصابة بالتهاب الضرع مع وجود العوامل المرضية المرافقة، وزاد تعداد حالات التهاب الضرع عموماً مع تقدم العمر الإنتاجي(OR = 1.49) ، بينما زاد تعداد حالات التهابات الضرع المعدية بدءاً من مرحلة الإدرار الثانية(بعد 30 يوم من الولادة) حيث بلغ تناسب الأفضلية التراجحي لهذه الفترة 2.6(OR=2.6). ويوضح الشكل رقم(16) تناسب الأفضلية لأهم عوامل الخطورة المؤثرة على حدوث الالتهاب

الشكل رقم(16): تناسب الأفضلية Odds Ratio لأهم عوامل الخطورة المؤثرة على التهاب الضرع.



4-7-3- الحساسية والنوعية لنتائج اختبار كاليفورنيا : بلغت نسبة الحساسية لاختبار كاليفورنيا بالارتباط مع نتيجة الفحص الجرثومي حوالي 70.51% ، بينما كانت النوعية لاختبار كاليفورنيا مقارنة مع نتائج الفحص الجرثومي 10.55%.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

4-7-4- العلاقة بين نوع الجراثيم المعزولة وقيم CMT

حسب تحليل نيومان كولس وباستخدام البرنامج الاحصائي Statistica,2008 لوحظ بأنه يوجد ارتباط معنوي($P\leq0.05$) بين نوع الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع تحت السريري وشدة الإصابة التي يستدل عليها من خلال درجة اختبار كاليفورنيا للكشف عن التهاب الضرع تحت السريري، وتشير درجة الاختبار إلى مستوى الخلايا الجسمية بالحليب (كلما كانت درجة الاختبارCMT≥ 2 فهذا مؤشر على شدة الإصابة) فكلما كان تعداد الخلايا الجسمية بالحليب مرتفع كانت الإصابة شديدة. كما أشارت نتائج تحليل نيومان كولس إلى أن الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري المسبب بالمفطورات والعنقودية الذهبية والعقدية القاطعة للإدرار كانت شديدة(CMT ≥ 2)، ومتوسطة(2≥CMT) في حال الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري المسبب بالعنقوديات السالبة للمخثراز و الإشريكية القولونية، وخفيفة في حالة الالتهاب المسبب بالمكيرات وأنواع جنس العصيات والعقدية ايبرس والعقدية البرازية والعقدية ديس أجلكتية. ويوضح الجدول رقم(30) العلاقة بين نوع الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع تحت السريري وشدة الإلتهاب(درجة CMT).

جدول (30) العلاقة الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع تحت السريري ودرجة CMT

نوع العزولة	Mean CMT score ± SE
المفطورات (الأجلكتية ،الماعزية)	3.00 ± 0^{a}
العنقودية الذهبية	2.94 ± 0.04^{a}
العقدية القاطعة للإدرار	3.00 ± 0^{a}
العنقودية البشروية	2.30 ± 0.05^{b}
العنقودية سيمولانس	2.03 ± 0.05^{b}
العنقودية هيكوس	2.18 ± 0.10^{b}
العنقودية زيلوس	1.83 ± 0.17^{b}
المكيرات	1.81 ± 0^{c}
العقدية ايبرس	2.26 ± 0.10^{abc}
العقدية البرازية	1.00 ± 0^{c}
العقدية ديس أجلكتية	2.50 ± 0.14^{abc}
أنواع جنس العصيات	2.00 ± 0.03^{abc}
الإيكولاي	2.00 ± 0.19^{b}

ملاحظة: Mean CMT score ± SE = متوسط درجة اختبار كاليفورنيا ± الخطاء المعياري
a = درجة الالتهاب شديدة ، b = متوسطة ، c = خفيفة و abc = معتدلة ، CMT = اختبار كاليفورنيا.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

4-7-5 - نتائج تقدير الخسائر الناجمة عن التهاب الضرع:

أظهرت نتائج حساب الخسائر الناجمة عن التهاب الضرع بأشكاله المختلفة أن التكلفة المادية الناتجة عن الإصابة بالتهابات الضرع الخفيفة بلغت 23 $U (لكل نعجة مصابة)أي ما يعادل 1000 ليرة سورية وهذه التكاليف شملت تكاليف المعالجة بالصادات وأجور الطبيب المعالج والتكلفة المادية الناتجة عن انخفاض انتاج الحليب والخسارة الناجمة عن التخلص من الحليب خلال فترة السحب أثناء المعالجة. بينما بلغت هذه التكاليف في حال الإصابة بالتهابات الضرع الشديدة أو الحادة 34 $U أي ما يعادل 1400 ليرة سورية، بالإضافة الى التكلفة الناتجة عن ارتفاع عامل الخطورة في تنسيق رأس الغنم من القطيع في حالة كانت الإصابة مزمنة وتحولت إلى شكل متكرر والبالغة U$40 أي ما يعادل 2000 ليرة سورية، أما التكاليف المادية الناتجة عن الحالة القاتلة لالتهابات الضرع وخصوصاً في حال التهابات الضرع فوق الحادة والتي تكون في معظم الحالات قاتلة فتقدر بالنسبة للرأس الواحد 233 $U أي ما يعادل 12000 ليرة سورية وتشمل هذه التكاليف مصاريف المعالجة والخسارة الناتجة عن انخفاض انتاج الحليب وأجور الطبيب بالإضافة إلى التكلفة الناتجة عن نفوق النعجة المصابة (تعادل U$200).

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الفصل الخامس

5-المناقشة:

Discussion

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

5-المـــــناقشـــــة:

يعتبر التهاب الضرع أحد الأمراض الأكثر أهمية من الناحية الصحية والاقتصادية عند الأبقار والأغنام الحلوب (Fthenakis and Jones,1990;Larsgard and Vaabnoe.,1993; Leitner et al., 2004; Heringstad et al., 2005)، فمن الناحية الصحية يؤدي إلى تلف جزئي أو كلي لغدة الضرع وتراجع في صحة النعجة المصابة ومن الناحية الاقتصادية يسبب خسائر مادية كبيرة في تربية الأغنام فهو سبب رئيسي لتنسيق وذبح النعاج المصابة، فقد ذكر(Holcombe, 2005) بأن تنسيق وذبح أغنام رامبويليت Rambouillet بسبب التهاب الضرع بلغ في الولايات المتحدة 46%، وما بين 13و50% في المملكة المتحدة(Bocklisch & Wetzstein, 1994)، كما أنه يسبب خسائر كبيرة لصناعة الألبان فيؤدي إلى انخفاض كبير بإنتاج الحليب وتدني بجودة ونوعية الحليب ، حيث أشار (Menzies, 2000) إلى أن الخسائر في إنتاج الحليب بسبب التهاب الضرع تتراوح بين20 و37 % وهذا بدوره يؤدي أيضاً إلى انخفاض في أوزان الحملان. بالإضافة إلى التكلفة المرتفعة الناجمة عن معالجة النعاج المصابة. و بالرغم من التنوع الواسع للأحياء الدقيقة المسببة لالتهاب الضرع عند الأغنام إلا أن المسببات المعدية(العنقودية الذهبية والعقدية الأجلكتية والمفطورات المسببة لمتلازمة جفاف الضرع المعدي) لالتهاب الضرع تحتل الصدارة من الناحية الوبائية والصحية عند الأغنام الحلوب كمسببات لالتهاب الضرع بسبب صعوبة السيطرة والتحكم بالتهاب الضرع المعدي، وبسبب التعقيدات الصحية والأضرار المرضية التي تلحق بالنعاج المصابة المتمثلة في تلف النسج المفرزة لغدة الضرع وإصابتها بالنخر وعدم عودة النسج اللبنية لوظيفتها الإفرازية مما يؤدي إلى تليف النسج الإفرازية وينتج عن ذلك انخفاض بإنتاج الحليب وحتى انعدام إفراز الحليب وجفاف الضرع المصاب مما يقود إلى تنسيق النعاج المصابة لأنها تفقد أهميتها الإنتاجية. كما أن خطورة انتقال هذه المسببات من نعجة إلى أخرى سبب آخر لتنسيق النعاج المصابة بالتهاب الضرع المعدي نظرا لصعوبة المعالجة والسيطرة على هذا النوع من الالتهاب ، **لذلك فقد هدف هذا البحث إلى التقصي عن التهاب الضرع المعدي وعزل مسبباته وتصنيفها ودراسة نمط تحسس المجموعات الجرثومية المعزولة للصادات وتحديد نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي وتحديد عوامل الخطورة المرافقة، وضع استراتيجيات التحكم بالتهاب الضرع من خلال تحديد عوامل الخطورة المرافقة لالتهاب الضرع.**

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

أجريت العديد من الدراسات حول التهاب الضرع عند الأغنام في سوريا وتباينت طرق العمل والجراثيم المعزولة وكانت خصوصية هذا العمل هي الكشف ولأول مرة بالطرق الجرثومية عن المفطورات (المايكوبلازما) وعلاقتها بالتهاب الضرع عند الاغنام.

5-1-التهاب الضرع السريري:

5-1-1-المشاهدات السريرية الحقلية :

بينت نتائج الدراسة الحقلية وجود 95 حالة إصابة ضرع سريرية عند النعاج التابعة للقطعان السرحية المملوكة للمربين وقطعان محطات البحوث في حمص وحماة ،حيث كانت النعاج التي أخذت منها العينات تظهر أعراضاً واضحة لالتهاب الضرع السريري وبلغ عدد النعاج التي ظهر عليها التهاب الضرع السريري بالإضافة إلى أنها كانت تعاني من أعراض متلازمة جفاف الضرع المعدي(التهاب ضرع ، التهاب مفاصل، التهاب عيون(Nicholas.,1996) 12 نعجة (12.63%)من مجموع النعاج المصابة بالتهاب الضرع السريري (95 نعجة)التي شملتها الدراسة، إن وجود الإصابة بمتلازمة جفاف الضرع المعدي في سوريا يتوافق مع ما ذكره عدد من الباحثين من أن المرض يوجد بشكل شائع في معظم البلدان المهتمة بتربية الأغنام والمتضمنة منطقة البحر الأبيض المتوسط(بما فيه القطر العربي السوري) وشبه جزيرة البلقان في أوربا وشرق آسيا وشمال ووسط أفريقيا (Al-Zeftawi., 1979; Lambert., 1987; Damdinsuren .,1989;Erdag 1989; Belaid et al. 1990; Da Massa et al. 1992; Ismail 1993; Nicholas., 1995; Sarris., 1996;Bergonier et al., 1997; Egwu et al. 1999; Kusiluka et al. 2000) . ولم توجد دراسة سابقة تشير إلى وجود المرض في سوريا وتعتبر هذه الدراسة أول دراسة تم من خلالها التقصي عن التهاب الضرع المعدي المسبب بالمفطورات التي تحدث التهاب الضرع المعدي عند الأغنام، كما تم من خلال هذه الدراسة عزل المفطورات من حالات التهاب الضرع السريري وتصنيفها، حيث عزلت المفطورات من 12 حالة التهاب ضرع سريري بنسبة 12.63% من 95 عينة وتم عزل نوعين من المفطورات حسب التصنيف الكيميا حيوي للمفطورات، حيث عزلت المفطورة الأجلكتية من 10 عينات (10.53%) أما المفطورة الماعزية فقد عزلت من عينتين حليب فقط (2.11%)، وتوافقت هذه النتيجة إلى حد قريب مع ما ذكره (Al-Momani et al.,2005) في نتائج الدراسة التي أجريت في الأردن بهدف عزل مفطورات المجترات الصغيرة وتمييزها جزيئياً حيث عزلت المفطورات من 8 عينات(13%) من أصل 62عينة حليب مجموعة من نعاج ظهر عليها أعراض متلازمة جفاف الضرع المعدي بدرجات متباينة. واختلفت هذه النتيجة مع (Al-Momani et al.,2005) حيث كانت عدد عزولات المفطورة الأجلكتية لديهم عزلة واحدة بينما بلغ عدد عزولات المفطورة الماعزية (13عزلة) والمفطورة ميكوئيديس 9 عزلات والمفطورة

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المزنخة Mycoplasma putrefaciens 21 عزلة واعتمدوا في تصنيفهم للمفطورات على عدة اختبارات مثل اختبار منع النمو (GI) واختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) وسبب هذا الاختلاف هو اختلاف عينات الدراسة لديهم فقد تضمنت مسحات أنفية أخذت من الماعز والأغنام بالإضافة إلى عينات الحليب التي أخذت من الأغنام والماعز التي كانت تعاني من أعراض متلازمة جفاف الضرع المعدي.

5-1-2- مسببات التهاب الضرع السريري:

أظهرت نتائج الفحص الجرثومي لــ 95 عينة حليب مأخوذة من نعاج مصابة بالتهاب الضرع السريري أن جميع العينات كانت ايجابية للزرع الجرثومي وبلغ عدد العزولات الجرثومية 121 عزلة حيث كان هناك عزل مفرد وعزل مختلط و كانت أهم الأحياء الدقيقة (الجراثيم) المعزولة من حالات التهاب الضرع السريري هي العنقودية الذهبية وعزلت من 49 عينة وبنسبة (51.57%) أما نسبة عزلها بالنسبة لعدد العزولات الجرثومية فبلغ 40.49% تلتها العنقوديات السالبة لخميرة المخثراز وعزلت من 29 عينة وبنسبة(30.53) وبنسبة عزل 23.97% والمفطورات عزلت من 12 عينة(12.63%) توزعت 10 عزلات مفطورة أجلكتية وبنسبة عزل 8.26% وعزلتين مفطورة ماعزية وبنسبة عزل 1.65%، العقدية القاطعة للإدراروعزلت من 4 عينات(4.21%) وبنسبة عزل3.31%، العقدية ايبرس وعزلت من 4 عينات(4.21%) وبنسبة عزل 3.31%، المكيرات الدقيقة وعزلت من 4 عينات (4.21%) وبنسبة عزل 3.31%، المانهيميا المحللة للدم عدد عزولاتها 3(3.15%)وبنسبة 2.48%، عزلت الباستريلة القتالة من 4عينات و بنسبة عزل **3.31%**، عزلت الإشريكية القلونية من 3 عينات (3.15%) وبنسبة عزل 2.48%، أنواع جنس الوتديات من 3عينات(3.15%)و بنسبة عزل 2.48%، أنواع جنس العصيات من 3 عينات(3.15%) و بنسبة عزل 2.48% والزائفة الزنجارية من 3 عينات(3.15%) و بنسبة عزل 2.48% .

تشير هذه النتائج إلى أن العنقوديات وخصوصاً العنقودية الذهبية التي عزلت من 49 عينة حليب سريرية (51.57%) والعنقودية البشروية (16%) هي المسببات الرئيسية لالتهاب الضرع السريري عند الأغنام في هذه الدراسة بالإضافة إلى المفطورات(12.63%) والتي عزلت من نعاج كانت تعاني من التهاب الضرع والتهاب المفاصل والتهاب العيون(متلازمة جفاف الضرع المعدي) مما يؤكد دور المكورات العنقودية وخصوصاً العنقودية الذهبية والعنقودية البشروية في حدوث التهاب الضرع السريري عند الأغنام، حيث برز دور العنقودية البشروية كمسبب رئيسي لالتهاب الضرع عند الأغنام فقد نوهت إلى ذلك العديد من الأبحاث التي أجريت في السنوات الأخيرة(Gutierrrez ,et al 1980). على الرغم من عزل المسببات الجرثومية

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الأخرى في هذه الدراسة ولكن بنسب أقل بكثير من نسب عزل العنقوديات فقد توافقت هذه النتيجة مع ما ذكره عدد من الباحثين الذين أشاروا إلى أن مسببات عديدة يمكنها أن تحدث التهاب الضرع ولكن أنواع جنس العنقوديات هي المسببات الأكثر شيوعاً لحالات التهاب الضرع عند الأغنام والماعز على الرغم من أن المسببات الأخرى مثل أنواع جنس العقديات والإمعائيات والزائفة الزنجارية والمانهيميا المحللة للدم والوتديات والفطور يمكنها أيضاً أن تسبب التهاب الضرع عند الأغنام ولكن بنسبةات حدوث أقل. (Las Heras et al., 1999; Berriatua et al., 2001; Bergonier and Berthelot, 2003; Contreras et al., 2003; Gonzalo et al.,2004b)

لو تأملنا في نتائج الفحص الجرثومي لعينات التهاب الضرع السريري في هذه الدراسة لوجدنا أن مسببات التهاب الضرع المعدي(العنقودية الذهبية والمفطورات والعقدية الأجلكتية) احتلت الصدارة بين مسببات التهاب الضرع السريري الجرثومية، فقد عزلت من 65 عينة(68.42%) من مجموع عينات الدراسة البالغ 95 عينة التهاب ضرع سريري عند الأغنام وأخذت العنقودية الذهبية الصدارة من حيث نسبة العزل فقد عزلت من 49 عينة (51.57%)و كانت الأكثر سيادة بين المسببات الجرثومية المحدثة لالتهاب الضرع السريري وجاءت المفطورات في المرتبة الثانية بعد العنقودية الذهبية فقد عزلت من 12 عينة(12.63%) وخصوصاً المفطورة الأجلكتية والتي عزلت من حالات التهاب الضرع السريري عند الأغنام التي كانت تعاني من أعراض متلازمة جفاف الضرع المعدي. أما العقدية الأجلكتية فقد احتلت المرتبة الثالثة والأخيرة بين المسببات المعدية المحدثة لالتهاب الضرع السريري وعزلت من 4 عينات(4.21%) يلاحظ من هذه النتيجة أنها عزلت بنسبة أقل من نسبة عزل العنقوديات وقد يكون السبب في ذلك أن المكورات العقدية القاطعة للإدرار نادرا ما تتواجد في بيئة وجلد الحيوان بعكس العنقوديات. توافقت هذه النتيجة وخصوصاً عزل العنقودية الذهبية من حالات التهاب الضرع السريري عند الأغنام مع ما أشارت إليه العديد من الدراسات والتي ذكرت أن العنقودية الذهبية هي المسبب الرئيسي لالتهاب الضرع السريري عند المجترات الصغيرة خصوصاً عند الأغنام وهي سبب للجائحات الوبائية والمستوطنة لالتهاب الضرع عند المجترات الصغيرة بالإضافة إلى العقدية الأجلاكتية (القاطعة للإدرار) (Bergonier and Berthelot.,1993 ;Berriatua and Ziluag.,2001).

ومع (Jensen and Swift., 1982;Jones and Watkins.,1998) الذين أشاروا إلى أن العنقودية الذهبية تحتل الصدارة بين مسببات التهاب الضرع السريري عند الأغنام وتشكل مع أنواع جنس المانهيميا (خصوصاً المانهيميا المحللة للدم A1 و A6 والمانهيميا جلوكوسيدا A11 وعترات غير مصنفة) حوالي 80% من مجموع المسببات الجرثومية التي تحدث التهاب

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الضرع عند الأغنام، وهي المسببات الرئيسية المعزولة من حالات التهاب الضرع السريري عند الأغنام في المملكة المتحدة. مما يوضح الأهمية الوبائية لهذه المسببات التي تؤدي في معظم الحالات إلى تلف نسيج غدة الضرع نتيجة النخر والتذيفن الشديد كذلك تتميز هذه العضويات بقدرتها على الانتقال من نعجة مصابة إلى أخرى سليمة. كذلك توافقت نتائج الفحص الجرثومي في دراستنا من حيث الأنواع الجرثومية المعزولة من حالات التهاب الضرع السريري إلى حد قريب مع نتائج الدراسة التي أجريت من قبل (حاغور والياسينو.، 1998) بهدف الكشف عن مسببات التهاب الضرع السريري عند الأغنام في محافظة حماة وحلب، حيث توصلا إلى أن أهم المسببات الجرثومية المعزولة من حالات التهاب الضرع السريري كانت المكورات العنقودية الذهبية وعزلت بنسبة(28.13 %) تلتها الباستريلة المحللة للدم (13.53%) والعصيات الشعية المقيحة(11.46%) و المكورات العنقودية الجلدية(9.4%) والعصيات الشمعية (7.3%) والاشريكية القولونية(5.21%) والمكورات العقدية البرازية (4.11%) وتطابقت نتائجنا إلى حد قريب وخصوصاً من حيث عزل العنقودية الذهبية مع ما ذكره (Shawkat et al.,1998)في نتائج دراستهم التي أجريت في الأردن، في وادي دوليل، فقد ذكروا أن المكورات العنقودية الذهبية هي أكثر الأنواع الجرثومية المسببة لالتهاب الضرع عند الأغنام، وعزلت بنسبة 50% وتلتها العقدية القاطعة للإدرار وعزلت بنسبة 26.7% وعزلت الاشريكية القولونيـة بنسبة 16.7%والزائفة الزنجارية بنسبة 6.6%. كذلك كانت نتائجنا متوافقة أيضاً مع ذكره(Arsenault et al.,2008) في نتائج دراستهم التي أجروها في مقاطعة كيوبيك بكندا على قطعان أغنام اللحم التجارية أن أهم المسببات الجرثومية المعزولة من حالات التهاب الضرع السريري عند قطعان الدراسة كانت العنقودية الذهبية (23%) والعنقوديات السالبة لخميرة المخثراز(17%) والمانهيميا المحللة للدم (26%) كما توافقت نتائج الفحص الجرثومي في هذه الدراسة من حيث الأنواع الجرثومية المعزولة إلى حد قريب مع ما ذكره (Mørk et al., 2007) في نتائج الفحص الجرثومي لديهم من أن المكورات العنقودية الذهبية كانت هي النوع السائد والمعزول بشكل متكرر من حالات التهاب الضرع السريري عند الأغنام في النرويج وبلغ نسبة عزلها (65.3%) تليها أنواع جنس المكورات العقدية (4.6%) والإمعائيات وبشكل أساسي الاشريكية القولونيـة (7.3%) والعنقوديات السالبة لخميرة المخثراز(CNS) (2.9%) و المانهيميا المحللة للدم بنسبة 1.8% وجراثيم أخرى بنسبة 4.9 % بينما 13.2 % من العينات كانت سالبة للزرع الجرثومي. وأختلفنا من حيث نسب عزل الأنواع الجرثومية وتعدد الأنواع الجرثومية التي عزلت في دراستنا هذه وخصوصاً عزل المفطورات وعدم الإشارة إلى ذلك في نتائج دراسات الباحثين السالف ذكرهم والسبب قد يكون لصعوبة عزل المفطورات ونظراً لان العزل والتقصي عن المفطورات لم تكن ضمن أهداف دراساتهم .

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

وقد يكون السبب الجوهري هو أن متلازمة جفاف الضرع غالبا ما تتناولها الدراسات كمرض مستقل عن التهاب الضرع نظراً لأنها تكون مترافقة بأعراض تظهر على الأغنام أو على الماعز على شكل التهاب عيون أو التهاب ضرع والتهاب مفاصل ونادراً ما يظهر التهاب الضرع بمفرده على النعاج المصابة وهذا ما شاهدناه في دراستنا هذه على النعاج التي كانت تعاني من أعراض متلازمة جفاف الضرع مجتمعة. كما اختلفت نتائجنا عن نتائج دراسة (Rezk.,1981) الذي عزل المكورات العنقودية البشروية من 52% من مجموع العينات،المكورات الدقيقة من 8.3% والعنقودية الذهبية من 13%من مجموع العينات و مع (Shouman et al .,1986) الذين ذكروا أن التهاب الضرع المسبب بالعقديات يمثل حوالي 35.7% من حالات التهاب الضرع عند الأغنام. كما أن(Karmy.,1990) ذكر أن العقدية القاطعة للإدرار كانت مسؤولة عن 26.22% من حالات التهاب الضرع عند الأغنام والعنقودية الذهبية عن 22.6% من حالات التهاب الضرع السريري عند الأغنام.كما أن نتائجنا تباينت مع نتائج (Bocklisch and Wetzstien .,1994) اللذان ذكرا أن الباستريلة المحللة للدم كانت تمثل حوالي 43 % من عينات التهاب الضرع عند الأغنام ، والعنقودية الذهبية 18.7% وأنواع جنس العقديات 7% والإشريكية القولونية7%.

5-2- التهاب الضرع تحت السريري:

أظهرت نتائج الفحص الجرثومي ونتائج اختبار كاليفورنيا لــ 565 عينة حليب مأخوذة من نعاج سليمة ظاهريا تابعة لقطعان سرحية مملوكة للمربين وقطعان تابعة لمحطات البحوث أن 385 عينة كانت ايجابية للزرع الجرثومي وبلغت نسبة الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري عند قطعان أغنام الدراسة 68.14%، كانت نسبة الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري أعلى من نسبة الإصابة السريرية وهذا يتطابق مع ما ذكره العديد من الباحثين الذين أشاروا إلى أن انتشار التهاب الضرع تحت السريري أعلى من نسبة انتشا ر التهاب الضرع السريري سواء عند الأبقار أو عند الأغنام على حد سواء.(Dario et al,1996; Alomar.,2000) والسبب في ذلك أن التهاب الضرع تحت السريري يتميز بعدم وجود علامات أو أعراض سريريه على الحيوان المصاب أو تغيرات مرئية في قوام الحليب ويحتاج إلى تشخيص حقلي أو مخبري، ويجب الاشتباه بوجود التهاب ضرع تحت سريري عند وجود انخفاض مفاجئ في إنتاج الحليب، وينبغي هنا التنويه إلى ضرورة إجراء فحص دوري للنعاج باستخدام اختبارات وكواشف حقلية للكشف المبكر عن التهاب الضرع تحت السريري والتقليل من الخسائر الناتجة عنه والحيلولة دون تحوله إلى التهاب سريري حاد أو مزمن. إن نتائجنا مشابهة لما ذكره (McCarthey et al .,1988) الذين أشاروا إلى أن نسبـات الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري تتراوح بين 14.3-60%،

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

وصرح(Keisler et al.,1992) بأن نسبة الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري تتراوح بين 17−50% في الدراسة التي أجراها، وذكر (De La Cruz et al.,1994) بأن نسبةات الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري تتراوح بين 36−69%.أما نسبةات الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري الأكثر انخفاضا فقد أشار إليها كل من(Gross et al.,1978) و(Hueston et al.,1986) و((Maisi et al.,1987)، و(Fthenakis et al.,1991)و (Watkins et al.,1991) و(Larsgard and Vaabeoe.,1993) و(Fthenakis.,1994) و (Quinn et al.,1994) و(Stefanakis et al.,1995) الذين وجدوا بأن نسبةات الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري كانت 10%، 2.9−22.9%،6.7%، 18%، 11.7%، 6.8%، 16.6%، 7% و 22% على التوالي. قد تكون هذه التباينات في نسبةات الانتشار أو الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري بسبب اختلاف سلالات الأغنام، إختلاف في طول فترة الحلابة والإرضاع التي تعقب الولادة(Hueston et al.,1986;McCarthy et al.,1988) أو بسبب الاختلاف في عدد المواليد لكل نعجة وعمر النعاج(Gross et al.,1978). أو قد تكون بسبب اختلاف المنطقة الجغرافية التي يتواجد فيها القطعان، الإجراءات الصحية والتقنيات المعتمدة في تقييم حدوث التهاب الضرع تحت السريري عند الأغنام (Ibrahim ,1996).أظهرت نتائج الفحص الجرثومي لــ 385 عينة حليب مجموعة من نعاج مصابة بالتهاب الضرع تحت السريري أن أهم الأحياء الدقيقة المعزولة كانت المكورات العنقودية السالبة لخميرة المختراز وشكلت النسبة العظمى للعزولات الجرثومية حيث بلغ عدد عزولاتها 229 عزلة وبنسبة عزل 52.28% وكانت أهم أنواعها العنقودية البشروية 119عزلة و بنسبة عزل 27.17%، والعنقودية سيمولانس 62 عزلة(14.16%)،العنقودية هيكوس 36 (8.22%)، العنقودية أكسلوس12 عزلة(2.74%).بينما بلغ عدد عزولات العنقودية الذهبية 13 عزلة (2.97%)، العقدية القاطعة للإدرار 19 عزلة (4.34%) والمفطورة الأجلكتية عزلة واحدة(0.23%) ومثلها المفطورة الماعزية عزلة واحدة (0.23%)، العقدية ديس أجلكتية 24 عزلة(5.48%)، العقدية إيبرس 25(5.71%)، العقدية البرازية 6 (1.37%)، المكيرات الدقيقة 48 عزلة(10.95%)، الزائفة الزنجارية 49(11.18%) والاشريكية القولونية 12 عزلة(2.74%)، أنواع جنس الوتديات عزلتين (0.46%)ومثلها أنواع جنس الفطورالشعية (0.46%) أما أنواع جنس العصيات (bacillus spp) فقد بلغ عدد عزولاتها 7 عزلات(1.59%). تشير هذه النتائج إلى أن المكورات العنقودية السالبة للمختراز بأنواعها المختلفة والمعزولة من حالات التهاب الضرع تحت السريري كانت هي الأنواع الجرثومية السائدة كمسببات رئيسية لهذا النوع من الالتهاب وتتفق هذه النتيجة مع ما أشار إليه العديد من الباحثين في نتائج دراستهم لحالات التهاب الضرع تحت السريري عند المجترات الصغيرة وخصوصاً عند الأغنام، حيث أشارت تلك الدراسات إلى أن المكورات العنقودية السالبة للمختراز(CNS)من

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

أهم وأكثر المسببات الجرثومية لالتهاب الضرع تحت السريري وتصل نسبة التهاب الضرع تحت السريري المسبب بها من25–93% بينما تصل نسبة التهاب الضرع تحت السريري الذي تسببه العنقودية الذهبية 3–37 % ومن أهم أنواع المكورات العنقودية السالبة للمختراز التي تسبب التهاب الضرع تحت السريري المكورات العنقودية البشروية S. epidemidis وسيمولانس S.simulans والصباغية S.chromogene و S.xylosus (Bergonier et al.,1996 ;Ariznabarreta et al al.,2002;Albenzio et al.,2002;Bergonier and Berthelot.,2003) . كذلك كانت نتائجنا مشابهة إلى حد قريب من حيث أنواع العنقوديات السالبة للمختراز المعزولة من حالات التهاب الضرع تحت السريري مع نتائج (Fthenakis.,1994) الذي ذكر أن أهم الأنواع كانت العنقودية البشروية والعنقودية سيمولانس والعنقودية زيلوس والعنقودية الصباغية، أما المسببات الأخرى التي تم عزلها أيضا فكانت العنقودية الذهبية والمكورات العقدية و أنواع جنس العصيات Bacillus spp و الاشريكية القولونية والباستريلة المحللة للدم والعصيات الشعية المقيحة ولكن بنسبة أقل. كما أن نتائج العزل الجرثومي في دراستنا كانت مشابهة إلى حد قريب مع توصل إليه (Ibrahim.,1996) في نتائج الإختبارات الجرثومية لعينات التهاب الضرع تحت السريري عند الأغنام حيث ذكر أن أهم الأحياء الدقيقة المعزولة كانت العنقودية الذهبية التي عزلت بنسبة 5.7%، العنقودية البشروية (8.9%)، والعنقودية سيمولانس(5%) والعنقودية الصباغية (2.1%) والعنقودية هيكوس (0.35%) والمكورات الدقيقة (5.7%) والعقديات (5.35%) الزائفة الزنجارية (3.37%) وأنواع جنس العصيات(1.4%).

بينت نتائج العزل الجرثومي في دراستنا أن العنقوديات والعقديات والمكيرات الدقيقة هي المسببات الرئيسية لالتهاب الضرع تحت السريري وهذا يتفق مع نتائج(Hueston et al.,1986)و(Maisis et al.,1987)و(Blood and Radostitis.,1989)و(Gutierrez et al.,1990)و(Keisler et al.,1992) و(Schoder et al.,1993) و(Tietze et al.,1993) و(de la Cruz et al.,1994) و (Fthenakis.,1994) و(Stefnakis et al.,1995) و(Ibrahim.,1996) و(Lafi et al.,1998).وتوافقت نتائجنا جزئياُ مع (Rezk.,1981) حيث عزل العنقودية البشروية بنسبة 43% و العنقودية الذهبية (10%) والعقديات (32%) وأنواع جنس الوتديات (13.4%).

اختلفت نتائج دراستنا عن(Waston and Buswell.,1984) حيث ذكرا أن أنواع جنس العصيات كانت هي العضويات السائدة المعزولة من حالات التهاب الضرع تحت السريري تليها المكورات العنقودية السالبة للمختراز. ومع (Watkins et al.,1991) الذي ذكر أن أنواع جنس العقديات هي المسببات الرئيسية(42%) لالتهاب الضرع تحت السريري تليها العنقوديات

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

السالبة لخميرة المختراز (33%)، الباستريلة المحللة للدم (17%) والعنقودية الذهبية (8%). كما اختلفت نتائجنا مع ما توصل إليه(AL- majali and Jawabreh.,2003) في الدراسة التي أجروها في الأردن لتحديد المسببات التي تحدث التهاب الضرع تحت السريري حيث كانت العنقودية الذهبية هي أهم المسببات وعزلت بنسبة 39% بينما عزلت المكورات العقدية بنسبة 25% والاشريكية القولونية بنسبة 19,6% والمكورات العنقودية السالبة للمختراز بنسبة 17,9%.كما تشير نتائج الفحص الجرثومي لعينات التهاب الضرع تحت السريري إلى أن مسببات التهاب الضرع المعدي قد عزلت أيضاً من حالات التهاب الضرع تحت السريري عند الأغنام[المفطورات والعنقودية الذهبية والعقدية القاطعة للإدرار] إلى جانب العنقوديات السالبة لخميرة المختراز وبلغ عدد عزولاتها 34 عزلة وبنسبة عزل 7.76% ،كانت موزعة على النحو التالي العنقودية الذهبية 13 عزلة وبنسبة عزل 2.97% والعقدية القاطعة للإدرار 19 عزلة وبنسبة عزل 4.34% والمفطورة الأجلكتية عزلة واحدة (0.23%) ومثلها المفطورة الماعزية عزلة واحدة (0.23%) مما يؤكد دور هذه المسببات في حدوث التهاب الضرع بشكليه الرئيسين السريري وتحت السريري عند الأغنام ويؤكد أهميتها الوبائية والإمراضية، فالخطورة الوبائية لهذه المسببات تبرز من خلال قدرتها على الانتقال من نعجة مصابة إلى أخرى سليمة أثناء عملية الحلابة والرضاعة من خلال أيدي الحلابين الملوثة بالمسببات المعدية ومن خلال فم الحملان الرضيعة واختراقها لقناة الحلمة وغزوها النسج اللبنية ، كما تتضح الآلية الإمراضية للمسببات المعدية من خلال ارتفاع الخلايا الجسمية في الحليب كنتيجة لردة الفعل الالتهابية الناتجة عن غزو المسببات المعدية للنسيج الإفرازي للضرع وإفرازها الذيفانات وعوامل الفوعة المختلفة مؤدية إلى نخر وموات هذه النسج مما يؤدي إلى فقدان النسيج وظيفته الإفرازية وتحل بالنهاية محله النسج الضامة الليفية .ترافقت الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري المحدث بالمسببات المعدية في هذه الدراسة بارتفاع تعداد الخلايا الجسمية في الحليب وقد تم تقييم تعداد الخلايا الالتهابية في الحليب بإجراء اختبار كاليفورنيا على عينات الحليب المجموعة من النعاج السليمة ظاهرياً التي شملتها الدراسة وكانت نتائج اختبار كاليفورنيا (CMT) وخصوصاً للعينات التي عزلت منها المسببات المعدية ≤ 2(CMT $\leq$ 2)، فقد أظهرت نتيجة اختبار كاليفورنيا أن تعداد الخلايا الجسمية كان مرتفع بعينات الحليب المعزولة منها المفطورات(CMT≥3)، كما أن هذه النعاج كانت تعاني انخفاض حاد بإنتاج الحليب وهذا يتوافق مع ماذكره (Corrales et al.,2004) بأن المفطورات تسبب ارتفاع بتعداد الخلايا الجسمية بالحليب وانخفاض شديد بإنتاج الحليب. وتتشابه هذه النتيجة مع ما ذكره العديد من الباحثين في نتائج دراسات التقصي عن مسببات التهاب الضرع تحت السريري عند الأغنام على الرغم من الإختلاف في نسب عزل هذه المسببات وعزل المسببات الأخرى، فقد

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

ذكر(Ebrahimi et al.,2007) في نتائج الدراسة التي أجروها في إيران على 400عينة حليب مأخوذة من نعاج سليمة ظاهريا أن أهم الجراثيم المعزولة كانت المفطورات وعزلت من 9عينات(47.37%)، العنقودية الذهبية وعزلت من 2 عينة(10.5%)، العقديات عزلت من عينتين(10.5%). ومع ما وجده(Al-Majali and Jawabreh.,2003) في الدراسة التي أجروها في الأردن لتحديد المسببات التي تحدث التهاب الضرع تحت السريري أن أهم المسببات الجرثومية المعزولة من عينات حليب النعاج المصابة هي العنقودية الذهبية وعزلت بنسبة39% بينما عزلت المكورات العقدية بنسبة 25% والاشريكية القولونية بنسبة 19.6%، ومن خلال الدراسة الوبائية التي أجراها(Lafi et al.,1998) على أغنام العواس شمال الأردن فقد وجدوا أن العنقودية الذهبية والمكورات العقدية كانت من أهم المسببات لالتهاب الضرع تحت السريري حيث عزلت كلاً منها بنسبة 6.8%. كذلك ذكر(Adwan et al,2005) في نتائج دراستهم لتحديد مسببات التهاب الضرع تحت السريري أن حالات التهاب الضرع تحت السريري عند الأغنام كانت ناتجة عن الإصابة بجراثيم موجبة الغرام حيث شكلت أنواع المكورات العنقودية حوالي 68.2 % من العزولات الجرثومية وهي الأنواع السائدة من الجراثيم كمسبب لالتهاب الضرع تحت السريري، وعزلت كلا من المكورات العنقودية الايجابية للمخثراز بنسبة 32.7% والمكورات العنقودية السالبة لخميرة المخثراز بنسبة 35.6%ومن أهم الأنواع الجرثومية المعزولة كانت العنقودية الذهبية(42.5%)والمكورات العنقودية البشروية(30%).

5-3- اختبار كاليفورنيا :الحساسية والنوعية،العلاقة مع نوع العزولات الجرثومية:

يعتبر اختبار كاليفورنيا (CMT) من الاختبارات الحقلية السريعة والرخيصة التي تستخدم على نطاق واسع في الكشف عن الاصابة بالتهاب الضرع تحت السريري عند الحيوانات الحلوب. يتفاعل كاشف كاليفورنيا مع المادة الأساسية لأنوية الخلايا الجسمية الموجودة بالحليب ليشكل هلام، حيث يقيم درجة الالتهاب حسب كمية الهلام المتشكل نتيجة هذا التفاعل(Klastrup et al.,1974;Shitandi and Kihumbu.,2004). أظهرت نتائج إختبار كاليفورنيا الذي طبق على 565 عينة حليب مأخوذة من نعاج سليمة ظاهرياً أن 210 عينات كانت ايجابية ضعيفة، حيث كانت درجة الاختبار(+1) ،253 عينات ايجابية متوسطة (+2)، 83 عينة كانت ايجابية قوية (+3) وعند مقارنة نتائج الفحص الجرثومي فقد كانت عدد العينات الايجابية للعزل والفحص الجرثومي 385 عنية فقط بينما كان عدد العينات الايجابية لاختبار كاليفورنيا هو 545 عينة وبناء على ذلك بلغت الحساسية والنوعية لاختبار كاليفورنيا مقارنة بوجود نمو جرثومي (العزل والزرع الجرثومي) 70.51%، 10.55% على التوالي، ويمكن تفسير هذا التباين في نتائج اختبار كاليفورنيا ونتائج الفحص الجرثومي نتيجة الإختلاف في فترة أخذ العينات حيث أن

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

البعض من العينات تم أخذها في فترة متقدمة من مرحلة الادرار والحلابة ويمكن أن يرتفع تعداد الخلايا الجسمية بالحليب في هذه المرحلة، وقد يكون السبب في ارتفاع تعداد الخلايا الجسمية بالحليب بسبب وجود اصابة بالفطور والخمائر أو الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري المسبب بجراثيم أخرى مثل الجراثيم اللاهوائية (المطثيات) التي لم تشملها الدراسة وتوافقت هذه النتيجة مع ما ذكره (Hariharan et al.,2004) في نتيجة دراستهم من أنه لايوجد توافق بين تعداد الخلايا الجسمية بالحليب ونتيجة الزرع والعزل الجرثومي حيث أن تعداد الخلايا الجسمية كان مرتفعا في بعض عينات الحليب التي شملتها الدراسة والتي كانت سلبية للفحص الجرثومي (لم يظهر نمو جرثومي فيها) وعزوا ذلك التباين الى احتمال وجود مسببات أخرى لم تدرس أو وجود أسباب أخرى مثل العوامل الفيزويولوجية التي ترتفع فيها الخلايا الجسمية وخصوصاً في الفترات القريبة من الولادة والمرحلة المتقدمة من الادارار(المرحلة الأخيرة من مرحلة الحلابة).

توافقت دراستنا من حيث نسبة الحساسية لاختبار كاليفورنيا الى حد قريب مع (Roy et al.,2009) الذين ذكروا بأن نسبة الحساسية في نتيجة دراستهم كانت 68.9% ،واختلفنا معهم من حيث نسبة النوعية لاختبار كاليفورنيا حيث بلغت لديهم 68.4%.والسبب في ذلك أن النتائج الايجابية الكاذبة للاختبار(CMT) مقارنة بنتائج النموالجرثومي كانت مرتفعة في دراستنا، ومن خلال هذه النتيجة التي توصلنا اليها في دراستنا يتبين لدينا بأنه يمكن استخدام اختبار كاليفورنيا (CMT) من أجل الوقوف على الحالة الصحية لأضرع الحيوانات الحلوب في ظروف الحقل الاّ انها ليست اختبارات تأكيدية.وهذا يتوافق مع ما ذكره ((Keisler et al.,1992)من أن اختبار كاليفورنيا ليس اختبار تأكيدي لإثبات حدوث التهاب الضرع تحت السريري ويجب أن يكون مقرون بإجراء الفحص والعزل الجرثومي لعينات حليب الحيوانات الحلوب المشتبهه.

بالنسبة لعلاقة نتيجة اختبار كاليفورنيا (درجة CMT) التي تعتبر مؤشر على شدة الالتهاب وعلى تعداد الخلايا الجسمية بالحليب مع نوع الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع تحت السريري، فقد أثبتت هذه الدراسة بأنه يوجد ارتباط معنوي بين نوع الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع ودرجة اختبار كاليفورنيا (شدة الالتهاب) حيث كانت قيمة $P \leq 0.05$ ،حيث أثبتت هذه الدراسة أن المسببات المعدية الجرثومية(المفطورات والعنقودية الذهبية والعقدية القاطعة للإدرار) المحدثة لالتهاب الضرع تحت السريري كانت مترافقة بتعداد عالي للخلايا الجسمية بالحليب (كانت درجة اختبار كاليفورنيا $CMT \geq 2$)، أما المسببات الأخرى فقد تباينت درجة CMT المرافقة لهذه الأنواع وخصوصاً العنقوديات السالبة للمخثراز وعموماً كانت درجة $CMT \geq 2$،وتوافقت نتيجة دراستنا مع (Ariznabarreta et al.,2002) حيث ذكروا بأن إصابة الضرع بالعنقودية الذهبية والعقدية القاطعة للادرار والباستريلة وبعض أنوع العنقوديات السالبة

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

للمختراز كانت مترافقة بإستجابة التهابية حادة مع قيم مرتفعة لاعداد الخلايا الجسمية بالحليب. كما توافقت نتائجنا مع (Arsenault et al.,2008) الذين ذكروا في نتائجهم بأن درجة CMT كانت مرتبطة ايجابياً مع عزولات العنقودية الذهبية المسببة لالتهاب الضرع تحت السريري، ومع (Corrales et al.,2004) الذي أكد بأن المفطورات تسبب ارتفاع بتعداد الخلايا الجسمية بالحليب وانخفاض شديد بإنتاج الحليب.

4-5- إختبار التحسس للصادات :

تستخدم الصادات في علاج الأمراض الجرثومية ومن هذه الأمراض مرض التهاب الضرع وقد استخدم طيف واسع من الصاداتلهذا الغرض بسبب تنوع الجراثيم التي تسبب المرض وهناك اختلاف كبير بين الدراسات حول الصاداتالمثلى للقضاء على المسببات ومن سنة إلى أخرى فان الجراثيم تزيد من قدرتها على مقاومة الصادات .

أظهرت نتائج اختبار الحساسية للصادات التي أجريت على المكورات ايجابية الغرام والعصيات سلبية الغرام الموضحة بالجدول (21،22) أن الصادات الأكثر فعالية على المكورات ايجابية غرام كانت كالتالي: التتراسكلين بنسبة 68.4% يليه تريمثوبريم–سلفاميثوكسازول(كولي بريم) 67.5%، الانروفلوكساسين 63 %، الجنتامايسين 52.4%، الكانامايسين 48%، اللنكومايسين40 %، النوفوبيوسين 31 % والأموكسيسيلين13% أما الصادات الأقل تأثيراً على الجراثيم المعزولة من حالات التهابات الضرع السريري وتحت السريري هي البنسلين حيث بلغت نسبة المقاومة له 93% والأمبسلين بنسبة 92% والأموكسيسيلين 87%.

كانت عزولات العصيات سلبية غرام حساسة تجاه الجنتامايسين (81.08%) ،النيومايسين (78.38%)، الكوليستين (73%)، التتراسكلين(64.86%) والانروفلوكساسين(59.45) **و** تريمثوبريم–سلفاميثوكسازول(59.45) وكانت حساسيتها ضعيفة تجاه الأمبسيلين (24.32%). توافقت نتائجنا إلى حد قريب مع ما ذكره(Akl.,1988;Ibrahim.,1996) في نتائجهم بأن المضاد الحيوي الأكثر فعالية ضد العزولات المختلفة كان الجنتامايسين،كما توافقت نتائجنا مع (Iqbal et al.,2004) الذين توصلوا في نتائجهم إلى أن الصادات الأكثر فعالية ضد الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع كانت الجنتامايسين، الانروفلوكساسين، نوروفلوكساسين والكانامايسين، ومع (Stefano et al.,2008) الذين أشاروا إلى أن ذراري العنقوديات كانت مقاومة للبنسلين،وتشابهت نتائجنا إلى حد قريب مع(Ebrahimi et al.,2007) الذين ذكروا بأن ذراري العنقوديات السالبة لخميرة المختراز المعزولة من حالات التهاب ضرع تحت سريري عند الأغنام كانت مقاومة للصاد الحيوي التتراسكلين بنسبة14.3% وكل عزولات العنقودية الذهبية كانت مقاومة للبنسلين واختلفنا معهم بأن كل العزولات الجرثومية المسببة لالتهاب الضرع في دراستنا كانت مقاومة للبنسلين ،بينما ذكروا بأن ذراري العنقوديات السالبة لخميرة

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المختراز كانت مقاومة للبنسلين والأمبسلين بنسبة 14.3% أي أنها حساسة بنسبة 85.7%، ومع(Adwan.,2006) الذي ذكر بأن 75.8%،66.7% من عزلات المكورات العنقودية الذهبية و المكورات العنقودية البشروية على التوالي كانت مقاومة للمضاد الحيوي أمسبلين ومع(Simko and Bartko ,1996) حيث أشاروا إلى أن ذراري العنقودية الذهبية المعزولة من حالات التهاب الضرع السريري كانت مقاومة للبنسلين والتتراسكلين بنسبة 68–69 % وللكانامايسين(8–10%)، انخفضت مقاومتها للصادات الحيوية بشكل ملحوظ في حالات التهاب الضرع تحت السريري حيث بلغت مقاومتها للبنسلين 30% وللكانامايسين(13%).

5–5–انتشار التهاب الضرع المعدي:

5–5–1– حسب المنطقة:

أظهرت نتائج التحليل الوبائي وتحديد نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي أن انتشار التهاب الضرع المعدي المحدث بالمسببات المعدية(العنقودية الذهبية والمفطورات والعقدية القاطعة للإدرار) بلغ عند قطعان أغنام الدراسة في محافظة حماة 1.95 % خلال فترة الدراسة بينما كان في محافظة حمص 2.36%، أما عند قطعان المحطات فقد كان نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي هو الأدنى مقارنة بالقطعان السرحية في حمص وحماة وبلغ 1.13 % وبلغ نسبة الانتشار العام لالتهاب الضرع المعدي عند قطعان الدراسة حوالي 2% . يلاحظ من هذه النتيجة أن نسبة الإنتشار عند قطعان الأغنام التي شملتها الدراسة في ريف حمص كان أعلى من نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي عند قطعان الأغنام التي شملتها الدراسة في ريف حماة وقطعان المحطات،على الرغم من أن عزولات المسببات الجرثومية المعدية المسببة لإلتهاب الضرع المعدي عند الأغنام في ريف حمص كان أقل من عزولات المسببات المعدية في قطعان ريف حماة والسبب هو أن مجموع الأغنام في قطعان ريف حمص(1400 نعجة حلوب) أقل من مجموع الأغنام في ريف حماة (1900نعجة حلوب) .يوجد القليل من الدراسات التي تشير بشكل صريح إلى التقصي عن التهاب الضرع المعدي عند الأغنام ولكن العديد من الدراسات ركزت على انتشار التهاب الضرع بشكليه السريري وتحت السريري ومن الناحية الوبائية فقد ركزت على انتشار التهاب الضرع السريري أو تحت السريري وعلاقة العمر وعوامل الخطورة الأخرى بحدوث التهاب الضرع وتحديد المسببات الجرثومية المحدثة لكل نوع من أنواع الالتهاب. أما في دراستنا هذه فقد كان التركيز على المسببات الجرثومية المحدثة لالتهاب الضرع المعدي ونسبة انتشار التهاب الضرع المعدي بالنسبة لالتهاب الضرع السريري وتحت السريري وعوامل الخطورة المرافقة لالتهاب الضرع المعدي. لو رجعنا إلى نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي في دراستنا حسب المنطقة لوجدنا أنه يوجد تشابه من الناحية السببية

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

لالتهاب الضرع المعدي ومدى تباين الانتشار حسب المنطقة مع ما توصل إليه الباحث النرويجي تورمود وزملاؤه(Tormod et al., 2007) الذين ذكروا انه يوجد تباين في انتشار التهاب الضرع عند الأغنام بين المقاطعات الثلاث الواقعة في الشرق والغرب والجنوب من النرويج حيث كانت المكورات العنقودية هي السائدة في حالات الإصابة بالتهاب الضرع السريري عند الأغنام وأنها متواجدة في 76% من حالات الإصابة في مقاطعة الشرق، 59% في مقاطعة الغرب و 69.5% من حالات الإصابة في مقاطعة الجنوب. تعد العنقودية الذهبية أحد المسببات الجرثومية الرئيسية المحدثة لالتهاب الضرع المعدي وقد أشارت كثير من الدراسات إلى أن العنقودية الذهبية هي العامل المسبب الأكثر شيوعا لالتهاب الضرع عند أغنام اللحم والحليب على حد سواء(Quinlivan.,1968; Kryzanowski et al.,1983; Watson et al.,1990 Jones.,1991).

5-5-2- حسب العمر الإنتاجي:

إن نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي حسب العمر الإنتاجي للنعاج بلغ عند النعاج بعمر سنتين 0.17 %، و بعمر 3 سنوات (0.4 %)، بعمر 4 سنوات(0.46 %)، بعمر 5 سنوات (0.56 %) وبعمر 6 سنوات(0.23%) .يلاحظ من خلال هذه النتيجة أن نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي عند النعاج بعمر 5 سنوات هو أعلى من الأعمار الأخرى، كما تبين نتيجة حساب نسبة الانتشار لالتهاب الضرع المعدي بأن نسبة الانتشار يزداد بزيادة العمر الإنتاجي وتتوافق هذه النتيجة مع ما ذكره(Watkins and jones.,1991) بأن نسبة انتشار التهاب الضرع عند الأغنام زاد بزيادة عمر النعجة الإنتاجي ،كذلك ذكرا (ALmagali and Jawabreh.,2003) أنه يوجد ارتباط معنوي بين عمر النعجة الانتاجي وحدوث التهاب الضرع عند الأغنام . في دراستنا فقد كان نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي عند النعاج بعمر سنتين هو الأدنى، كان نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي عند النعاج بعمر 6سنوات منخفض وبلغ(0.23%) مقارنة بالأعمار 3، 4 و5 سنوات، وقد يكون السبب في ذلك أن إنتاج النعاج من الحليب بعمر مبكر يكون منخفض مقارنة بانتاج النعاج ذات الأعمار 4،5،3 سنوات حيث يزداد إنتاجها من الحليب وبالتالي تكون مهيئة للاصابة بالالتهاب ،كما أن إجهاد الرضاعة والحلابة يجعل النعاج أكثر عرضة للإصابة بالتهاب الضرع، وهذا يتوافق مع ما ذكره (Špánik et al., 2004) بأن التطبيق المتزايد للحلابة يرهق الغدة اللبنية مما يؤدي إلى تمددها وتوسع قناة الحلمة مما يجعلها أكثر عرضة للإصابة بالتهاب الضرع، وإن انخفاض الإصابة بالتهاب الضرع المعدي بعمر 6 سنوات وما فوق ، قد يكون بسبب انخفاض الإنتاج أو أن النعاج تكون قد اكتسبت مناعة ضد مسببات التهاب الضرع المعدي .

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

5-6- انتشار التهاب الضرع السريري وتحت السريري :

بلغ انتشار التهاب الضرع السريري(المعدي وغير المعدي) بكل قطعان الدراسة 1.98% أي ما يقارب2% وانتشار التهاب الضرع تحت السريري(المعدي وغير المعدي) بكل قطعان الدراسة68.14%.يتضح من خلال هذه النتيجة أن انتشار التهاب الضرع السريري عند قطعان الدراسة بلغ 2% تقريباً وهذا يوافق ما ذكره(Kirk and Glenn.,1996; Calavas et al.,1998; Lafi et al.,1998; Haenlein.,2002) بأن الحدوث السنوي لالتهاب الضرع السريري عادة ما يكون أقل من **5%** و نسبة قليلة من القطعان يكون حدوث التهاب الضرع السريري عندها أعلى وقد يتجاوز 30-50% من الحيوانات مسبباً النفوق أو تنسيق وذبح حتى70% من القطيع.أما انتشار التهاب الضرع تحت السريري عند قطعان الدراسة فقد بلغ **68.14%**.توافقنا في نتيجتنا الى حد قريب مع ما توصل اليه (La Heras et al.,1998) حيث ذكروا بأن نسبة انتشار التهاب تحت السريري عند الأغنام يتراوح بين 5-67 %، ومع (Adwan et al,2005)حيث ذكروا أن انتشار التهاب الضرع دون السريري في الأغنام في شمال فلسطين بلغ72 % . واختلفنا بالنتيجة التي توصلنا اليها في دراستنا مع ما توصل إليه (Gross et al.,1978) و(Masisi et al.,1987) و(Watkins et al.,1991) و(Larsgard and Vaabeoe.,1993) و(Al-Majali and Jawabreh., 2003) الذين ذكروا في نتائج دراساتهم بأن نسبة انتشار التهاب الضرع تحت السريري بلغ لديهم10%،6.7%،11.7%،6.8%،7% و18,3 % على الترتيب.

5-7- نسبة الحالة القاتلة لالتهاب الضرع :

أظهرت النتائج أن نسبة الحالة القاتلة بلغ في ريف حماة(0.057%)، ريف حمص (0.054%)، قطعان المحطات(0.016%) يتضح من خلال هذه النتيجة أن نسبة الحالة القاتلة ونسبة تنسيق النعاج بسبب التهاب الضرع كان عند قطعان الأغنام الرعوية في ريف حمص وحماة أعلى منه عند قطعان أغنام المحطات والسبب في ذلك يعود للإدارة الجيدة والرعاية الصحية للنعاج في قطعان المحطات ومعالجة النعاج المصابة بالتهاب الضرع بوقت مبكر بعكس النعاج المصابة الرعوية التي لا تعالج إلا بوقت متأخر وعدم اختيار العلاج المناسب وإعطاؤه بشكل مبكر يؤدي إلى فقدان الضرع لوظيفته، إضافة إلى أنه في حالات التهاب الضرع فوق الحاد والحاد وحالات التهاب الضرع الغانغريني غالباً ما تتفاقم حالة النعاج الصحية إذا لم تعالج بوقت مبكر وقد يؤدي في معظم الحالات الى نفوق النعاج المصابة نتيجة تدهور حالتها الصحية وقد ينتج عن التهاب الضرع الغانغريني سقوط غدة الضرع. كما أن التغذية الجيدة والإجراءات الصحية المتبعة في محطات بحوث الأغنام قلل من نسبة الحالة

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

القاتلة عند الأغنام بسبب التهاب الضرع . لو تأملنا في نسبة الحالة القاتلة التي توصلنا لها في دراستنا لوجدنا أنها أقل مما ذكره عدد من الباحثين، فقد ذكر(Holcombe, 2005) بأن تنسيق وذبح أغنام رامبويليت Rambouillet بسبب التهاب الضرع بلغ في الولايات المتحدة 46% و ما بين 13 و50% في المملكة المتحدة(Bocklisch and Wetzstein, 1994) وقد يكون السبب في ذلك أن حجم القطعان المدروسة لديهم أكبر من حجم القطعان المشمولة في دراستنا ،كما أن حجم الإنتاج عند قطعان الأغنام المذكورة من قبل الباحثين المذكورين آنفاً أكبر من القطعان المشمولة في دراستنا وقد تلعب ظروف التربية والإنتاج والتغذية دوراً في تباين نسبة الحالة القاتلة.

5-8- دراسة عوامل الخطورة المرافقة لحدوث التهاب الضرع المعدي:

شملت هذه الدراسة كلا من صفات الحيوان الخاصة و العوامل البيئية المرتبطة بشكل أو بأخر بحدوث الإصابة كالمنطقة الجغرافية و الصفات الإنتاجية لكل حيوان وتم استخدام الانحدار اللوغاريتمي المتعدد لبيان تأثير عوامل الخطورة المرافقة على حدوث التهابات الضرع المعدية عند الأغنام حيث تم إجراء دراسة الانحدار اللوغاريتمي من خلال ما يعرف بالدراسة المرحلية المتدرجة Stepwise Analysis وذلك من خلال استخدام اختبارGالإحصائي وبالرجوع إلى قيمة P المحسوبة تبين أن العوامل المرافقة مثل وجود صوف كثيف حول غدة الضرع أو عمليات التعقيم قبل و بعد الحلابة و كذا عمليات التعقيم الخاصة بالحلاب و كذا تداخل العمر الحقيقي مع العمر الإنتاجي كانت غير معنوية لذا تم إهمالها في النموذج النهائي، كما تم استبعاد عامل التغذية وعامل نوع التربية سواء كانت سرحيه أو نصف مغلقة أو مغلقة عن نموذج الدراسة لأن قيمة $0.05<P$ أي ليس لها تأثير معنوي على انتشار التهابات الضرع المعدية عند الأغنام . أما بالنسبة للعمر الإنتاجي والمنطقة والمرحلة الإنتاجية(مرحلة الإدرار) ووجود إصابات أخرى مرافقة لالتهاب الضرع عند النعاج الحلوب فقد كانت قيمة $0.05>P$ أي لها تأثير معنوي على حدوث التهاب الضرع وبالتالي فهي مؤثرة على انتشار التهاب الضرع المعدي عند قطعان أغنام الدراسة.

5-8-1- تأثير المنطقة الجغرافية على حدوث التهاب الضرع المعدي :

أظهرت نتائج الانحدار اللوغاريتمي المتعدد لدراسة بعض عوامل الخطورة الكامنة أن قيمة تناسب الأفضلية التراجحي (OR) عند قطعان ريف حمص و حماة والغاب كانت OR =3.70، 2.52، 2.75 على الترتيب بينما كانت قيمة(OR) أقل عند قطعان المحطات ((OR= 2) ،يتضح من هذه النتيجة أن عامل المنطقة يلعب دور ايجابي في زيادة خطورة الإصابة بالتهاب الضرع المعدي عند الأغنام وبالتالي فإن هناك ترافق قوي بين هذا العامل المشتبه وخطورة حدوث التهاب الضرع المعدي عند الأغنام . نلاحظ أن قيمة(OR) عند

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

قطعان أغنام ريف حمص هي الأعلى من قيمة(OR) في كل ريف حماة والغاب وتفسير ذلك بأن أعلى انتشار لالتهاب الضرع المعدي كان أعلى عند قطعان ريف حمص وقد يكون السبب في ذلك أن معظم قطعان الأغنام المدروسة في حمص كانت متوزعة في البادية (تدمر) والسعن وكانت هذه المناطق تفتقر للمراعي،كما أن ندرة الأمطار في فترة الدراسة في هذه المنطقة جعلها فقيرة بالمراعي وعامل آخر هو غلاء الأعلاف وعدم تمكن المربي من تأمين الأعلاف المناسبة للقطعان وعدم تقديم الرعاية البيطرية المناسبة للقطعان جعلها أكثر عرضة للإصابة بالتهاب الضرع مقارنة بقطعان الأغنام في ريف حماة والغاب. كما أن قيمة(OR) عند قطعان المحطات هي الأدنى نظراً للادراة الجيدة والرعاية الصحية لقطعان المحطات مقارنة بقطعان الأغنام السرحية التي تفتقر للرعاية الصحية والادراة السليمة وعدم تقديم العلاج المناسب في وقت مبكر وبالتالي تزداد خطورة الإصابة بالتهابات الضرع المعدية عند هذه القطعان. إن إثبات تأثير المنطقة كعامل خطورة كامن على حدوث التهاب الضرع المعدي عند الأغنام في دراستنا يتوافق مع ما توصل إليه(Arsenault et al.,2008) في نتائج دراستهم المتضمنة تأثير عوامل الخطورة على حدوث التهاب الضرع السريري وتحت السريري عند قطعان الأغنام المنتجة للحم في مقاطعة كيوبيك بكندا ، حيث ذكروا بأنه يوجد ارتباط معنوي بين المنطقة وحدوث التهاب الضرع السريري عند القطعان المدروسة حيث كانت قيمة(P=0.02) في منطقة Estrie وفي منطقة Bas-St-Lauren كانت (p=0.4).

5-8-2- تأثير العمر الإنتاجي على حدوث التهاب الضرع المعدي :

أثبتت الدراسة أن العمر الإنتاجي للنعاج له تأثير كعامل خطورة مرافق لحدوث التهاب الضرع المعدي عند قطعان الأغنام التي شملتها الدراسة في ريف حماة وحمص والغاب وقطعان المحطات حيث كانت قيمة (OR) تناسب الأفضلية التراجحي لهذا العامل يساوي 1.49(OR=1.49) وبالتالي فإنه يوجد ترافق قوي بين عامل العمر الإنتاجي للنعاج وخطورة إصابتها بالتهاب الضرع المعدي وتطابقت هذه النتيجة مع ما ذكره (Waage and Vatn.,2008) بأنه يوجد ترافق بين العمر الإنتاجي للنعاج وخطورة إصابتها بالتهاب الضرع حيث كانت قيمة تناسب الأفضلية التراجحي لعامل عمر النعجة الانتاجي يساوي 1.2 (OR=1.2) ،حيث أنه يزداد احتمال إصابة النعجة بالتهاب الضرع بزيادة عمرها الإنتاجي.

5-8-3- تأثير مرحلة الادرار(الحلابة) على حدوث التهاب الضرع المعدي:

أظهرت نتائج الانحدار اللوغاريتمي المتعدد لتحليل عوامل الخطورة المرافقة ومن خلال حساب قيمة تناسب الأفضلية التراجحي بأن مرحلة الإدرار الأولى الممتدة من الولادة وحتى اليوم الثلاثين بعد الولادة لم يكن لها تأثير معنوي كعامل خطورة على حدوث التهاب الضرع المعدي عند النعاج في قطعان الدراسة حيث كانت قيمة تناسب الأفضلية التراجحي تساوي

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

صفر(OR=0.00) ،بينما المرحلة الثانية من موسم الادرار(أكبر من 30 يوم) كان لها تأثير كعامل خطورة على حدوث التهاب الضرع المعدي عند النعاج حيث كانت قيمة تناسب الأفضلية التراجحي لهذه المرحلة يساوي 2.60 (OR=2.60) وبالتالي يوجد ارتباط أو ترافق بين المرحلة الثانية للادرار(الفترة الممتدة بين الأسبوع الرابع وحتى نهاية فترة الادرار) للنعاج وخطورة إصابتها بالتهاب الضرع، وقد فسر ذلك من قبل الباحث(Indrebø.,1991) الذي ذكر بأن الحليب المستهلك من قبل الحملان يزداد في هذه المرحلة ، كما أن بزوغ الأسنان(القواطع) خلال هذه المرحلة يزيد من خطر جروح أو إصابات الحلمة كما ذكر بأنه قد سجلت جروح الحلمة وبشكل متكرر عند النعاج خلال هذه المرحلة وكانت مترافقة بالتهاب الضرع السريري. وتوافقت نتيجة دراستنا المتمثلة بوجود تأثير لفترة الادرار كعامل خطورة لحدوث التهاب الضرع عند النعاج مع(Onnasch et al.,2002) حيث أشاروا إلى أن التهاب الضرع عند النعاج يبلغ ذروته بين الأسبوع الرابع والسابع من الولادة، واختلفت نتيجتنا مع ما ذكره(Jones.,1991; Tormod et al.,2007) بأن التهاب الضرع عند النعاج يبلغ ذروته في الأسبوع الأول بعد الولادة وتكون الفترة الثانية لحدوث التهاب الضرع بين الأسبوع الثالث والرابع من الولادة حيث يبلغ التهاب الضرع ذروته خلال هذه الفترة.

5-8-4- تأثير وجود الإصابات كعامل خطورة على حدوث التهاب الضرع المعدي:

بينت الدراسة من خلال نتائج الانحدار اللوغارتيمي المتعدد لتحليل عوامل الخطورة ومن خلال حساب تناسب الأفضلية التراجحي بأن عدد حالات الإصابة بالتهاب الضرع عند النعاج زادت مع وجود إصابات مرضية أخرى(جروح الحلمة، وجود خراجات سطحية، الإصابة بداء الباستريلات، الإصابة بمتلازمة جفاف الضرع المعدي) حيث كانت قيمة تناسب الأفضلية التراجحي لهذا العامل يساوي 13.14(OR=13.14) مما يؤكد وجود ترافق قوي بين عامل الخطورة المتمثل بوجود عوامل مرضية أخرى عند النعاج وحدوث التهاب الضرع المعدي عند هذه النعاج وتشابهت هذه النتيجة إلى قريب مع(Vautor et al.,2003) الذين أشاروا إلى أنه يوجد ارتباط أو علاقة بين الآفات السطحية للضرع وإصابات الحلمة وبين و بين حدوث التهاب الضرع عند النعاج وقد فسرت هذه العلاقة بأن معظم المسببات المعدية تتواجد بهذه الآفات وتنتقل إلى داخل الضرع من خلال فتحة الحلمة أثناء عملية الحلابة.

واختلفت نتيجتنا مع ما توصل إليه (Watkins and jones.,1991;ALmagali and Jawabreh.,2003) حيث ذكروا بأنه لا يوجد ارتباط معنوي بين التهاب الضرع عند النعاج ووجود الآفات المرضية بالحلمات حيث لم تزداد عدد حالات الإصابة بالتهاب الضرع عند النعاج بالتزامن مع وجود الآفات المرضية بالحلمات.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الفصل السادس

6-الاستنتاجات والتوصيات

Conclusion & Recommendations

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

6-الاستنتاجات والتوصيات:

6-1-الاستنتاجات:

1 -تبين هذه الدراسة أن التهاب الضرع تحت السريري هو النوع الأكثر انتشاراً بين قطعان الأغنام في المنطقة الوسطى من سوريا .

2 -كان انتشار التهاب الضرع المعدي عند قطعان أغنام ريف حمص أعلى منه عند قطعان ريف حماة و محطات البحوث.

3 -بينت الدراسة أن حالات التهابات الضرع المعدية تتزايد مع تقدم العمر الإنتاجي للنعاج وخاصة مابين العمر الإنتاجي الثاني والخامس.

4 -أظهرت الدراسة أن نسبة الحالة القاتلة لالتهابات الضرع بلغ أعلى مستوياته عند قطعان الأغنام في ريف حماة وحمص(0.057%،0.054%) مقارنة بقطعان محطات البحوث(0.016%).

5 -كان وجود عوامل مرضية أخرى مصاحبة لالتهاب الضرع هو العامل الأكثر تأثيرا على حدوث التهاب الضرع عند النعاج حيث بلغ تناسب الأفضلية التراجعي(OR=13.14) لهذا العامل أعلى قيمة مقارنة بالعوامل الأخرى.

6-بلغت نسبة عزل المسببات المعدية من حالات التهاب الضرع المعدي عند النعاج 53.72% من مجموع 121 عزلة جرثومية ، بينما كانت نسبة عزل المسببات المعدية في حالة التهاب الضرع تحت السريري منخفضة حيث بلغت 7.76% من مجموع 438 عزلة جرثومية مختلفة.

6 -كانت العنقودية الذهبية هي السائدة بين المسببات المعدية والأكثر عزلاً من حالات التهاب الضرع السريري وتحت السريري عند قطعان أغنام الدراسة مقارنة بالمسببات المعدية الأخرى(المفطورات والمكورات العقدية القاطعة للإدرار).

7 -المكورات العنقودية السالبة لخميرة المختراز مسببات رئيسة لالتهاب الضرع تحت السريري.

8 -بينت هذه الدراسة أن المفطورات وخصوصاً المفطورة الأجلكتية عزلت من حالات التهاب الضرع السريري عند النعاج التي كانت تعاني من أعراض متلازمة جفاف الضرع الساري فقط (التهاب ضرع والتهاب مفاصل والتهاب ملتحمة).

9 -عزلت الباستريلة من نعاج مصابة بالتهاب ضرع سريري سبق لها أن أصيبت بداء الباستريلات وكانت حملانها مصابة أيضاً بالمرض.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

10 – عزلت جراثيم أنواع جنس الوتديات والعصيات الشعية المقيحة من نعاج كانت مصابة بخراجات سطحية .

11 –بينت الدراسة أن الصاد الأكثر فعالية ضد المكورات ايجابية غرام المسببة لالتهاب الضرع هو التتراسكلين والجنتامايسين هو الصاد الأكثر فعالية ضد العصيات السلبية غرام المسببة لالتهاب الضرع وكان البنسلين هو الصاد الأقل فعالية وبلغت نسبة المقاومة له من قبل المكورات ايجابية غرام 93%، يليه الأمبسيلين والأموكسيسلين.

6–2–التوصيات:

أما التوصيات المقترحة في هذه الدراسة فتتضمن:

1 –إجراء دراسة شاملة لمرض التهاب الضرع بأنواعه عند النعاج في عموم القطر العربي السوري.

2 –التأكيد على إجراء الفحوصات الحقلية بشكل دوري للكشف عن حالات التهاب الضرع تحت السريري لمعالجتها والحد من الخسائر التي قد يسببها هذا النوع وكذلك الحؤل دون تطورها إلى حالات سريرية حادة.

3 –إجراء تقصي شامل عن متلازمة جفاف الضرع المعدي عند الأغنام والماعز في كل محافظات القطر كون المرض من أهم الأمراض التي تصيب الأغنام والماعز ويسبب خسائر مادية كبيرة.

4 –معالجة آفات الحلمة والخراجات السطحية لما لها من دور مؤثر في حدوث التهاب الضرع واحتمال انتقال الجراثيم المسببة لهذه الآفات إلى داخل الضرع.

5 –منع الحملان المصابة بداء الباستريلات من الرضاعة ومعالجتها لتجنب انتقال العامل المسبب للمرض إلى داخل الضرع .

6 –إجراء اختبار الحساسية للصادات لتحديد الدواء الأكثر فعالية تجاه مسببات التهاب الضرع الجرثومية عند الأغنام.

7 – التأكيد على تنظيف و تعقيم حلمات الضرع قبل وبعد الحلابة وتنظيف وتعقيم أيدي الحلابين لتجنب انتقال المسببات المعدية لالتهاب الضرع من نعجة لأخرى.

8 – تنسيق النعاج المصابة بالتهاب الضرع المعدي لتجنب انتشار المسببات المعدية في القطيع، كون هذه المسببات لا تستجيب للعلاج ونسبة الشفاء منها منخفضة.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الفصل السابع

7-الملخص العربي:

Arabic summary

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

7- الملخص:

تضمنت هذه الدراسة جمع 565عينة حليب عشوائيا من نعاج سليمة ظاهرياً و95 عينة حليب من نعاج مصابة سريريا بالتهاب الضرع من قطعان موزعة في مناطق مختلفة من ريف محافظتي حماة وحمص ومن قطعان تابعة لمحطات البحوث في تلك المحافظات في الفترة الممتدة بين كانون الأول 2007 وحزيران 2008. أجري اختبار كاليفورنيا على عينات حليب النعاج السليمة ظاهرياً لمعرفة الحالات المصابة إصابة تحت سريرية وتفريقها عن السليمة منها، أما الحالات المصابة سريريا فقد سجلت من الحقل بالاستدلال على ذلك من العلامات السريرية ومن أصحاب القطعان، كما أجري الفحص الجرثومي لجميع عينات الحليب التي جمعت.

كانت جميع العينات المأخوذة من حالات التهاب ضرع السريري ايجابية للفحص الجرثومي وكانت أهم الأنواع الجرثومية المعزولة منها العنقودية الذهبية وعزلت بنسبة 40.49% والمكورات العنقودية السالبة لخميرة المختراز(23.96%)، المفطورة الأجلكتية(8.26%)، العقدية القاطعة للإدرار(3.31%)، العقدية ايبرس (3.31%) والمكيرات الدقيقة(3.31%) المانهيميا المحللة للدم (2.48%)، الباستريلة القتالة (3.31%)، والإشريكية القولونية (2.48%)،أنواع جنس الوتديات(2.48%)، أنواع جنس العصيات (2.48%) والزائفة الزنجارية(2.48%) والمفطورة الماعزية (1.65%).

أظهرت نتائج الفحص الجرثومي المجراه على 565 عينة حليب سليمة ظاهرياً أن 385 عينة منها كانت ايجابية للفحص الجرثومي حيث بلغت نسبة الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري 68.14% وكانت أهم أنواع الجراثيم المعزولة من حالات التهاب الضرع تحت السريري هي المكورات العنقودية السالبة لخميرة المختراز وعزلت بنسبة (52.28%)، الزائفة الزنجارية (11.18%)، المكيرات الدقيقة (10.95%)، العقدية ايبرس(5.71%)، العقدية ديس أجلكتية (5.48%)، العقدية القاطعة للإدرار (4.34%)، العنقودية الذهبية (2.97%)، الاشريكية القلونية (2.74%)، أنواع جنس العصيات (1.59%)، العقدية البرازية (1.37%)، أنواع جنس الفطورالشعية (0.46%)، أنواع جنس الوتديات (0.46%)، المفطورة الأجلكتية (0.23%) والمفطورة الماعزية(0.23%).

عند إجراء اختبار التحسس للصادات تبين أن الصادات الأكثر تأثيرا على المكورات ايجابية غرام هي التتراسكلين بنسبة 68.4 % يليه تريمثوبريم–سلفاميثوكسازول (كولي بريم) 67.5%، انروفلوكساسين 63 % ، جنتامايسين 52.4 % ، كانامايسين 48 % ، لنكومايسين 40 % ، نوفوبيوسين 31 % والأموكسيسيلين 13 % بينما كانت أهم الصادات المؤثرة على

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

العصيات سلبية غرام هي الجنتامايسين(81.08%) ،النيومايسين (78.38%)، الكوليستين (73%)، التتراسكلين (64.86%) والانروفلوكساسين (59.45%) وتريمثوبريم- سلفاميثوكسازول (59.45%)، أما الصادات الأقل تأثيراً على الجراثيم المعزولة فكانت البنسلين حيث بلغت نسبة المقاومة له 93% والأمبسلين بنسبة 92% والأموكسيسيلين 87%.
أظهرت هذه الدراسة أن انتشار التهاب الضرع تحت السريري عند النعاج السليمة ظاهرياً بلغ 68.14%، بينما بلغت نسبة انتشار التهاب الضرع السريري عند قطعان أغنام الدراسة 2%، بلغ نسبة انتشار التهاب الضرع المعدي في جميع قطعان الدراسة 1.81 % ،كان أعلى نسبة لانتشار التهاب الضرع المعدي عند النعاج بعمر 4، 5سنوات حيث بلغ 3.33%، 4.09% على الترتيب مقارنة بالأعمار الأخرى.
أظهرت هذه الدراسة بأن أهم عوامل الخطورة المؤثرة على حدوث التهاب الضرع المعدي كانت العمر الإنتاجي للنعجة(OR =1.49)، منطقة توزع قطعان الأغنام(OR=2.74)، مرحلة الأدرار الثانية(بعد 30 يوم من الولادة)(OR=2.6)، وجود حالات مرضية أخرى(OR=31.14) عند النعاج وهذا العامل كان الأكثر تأثيرا على حدوث التهاب الضرع عند النعاج حيث زادت عدد حالات التهاب الضرع مع وجود حالات مرضية أخرى.
أظهرت نتائج اختبار كاليفورنيا المجراه على 565 عينة حليب سليمة ظاهرياً أن 385 عينة كانت ايجابية لاختبار كاليفورنيا و بلغت نسبة الحساسية والنوعية لاختبار كاليفورنيا (CMT)70.51 % 10.51% على التوالي مقارنة بنتائج الفحص الجرثومي لعينات الحليب السليمة ظاهرياً وهذه النتيجة تشير إلى أنه يمكن استخدام الاختبار من أجل الوقوف على الحالة الصحية للضروع النعاج إلا أنه ليس اختبار تأكيدي ويجب ربط النتائج بنتائج الفحص الجرثومي،وكان هناك ارتباط معنوي بين نوع الجراثيم المعزولة ودرجة (CMT) حيث أخذت المسببات الرئيسية لالتهاب الضرع وخصوصاً المعدية منها الدرجة 3 لاختبار كاليفورنيا (CMT=3). يجب أن تفسر النتائج المذكورة في الدراسة بحذر وخاصة بالنسبة للممرضات المعزولة.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الفصل الثامن

9-الملخص الإنكليزي

English Summary

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

Summary

The study was conducted on 565 milk samples which was collected randomly from apparently healthy ewes and 95 samples from clinically mastitic ewes. The flocks were located at different regions of Hama and Homs governorates and at sheep research stations during the period from December, 2007 to June, 2008. California mastitis test had been conducted on the milk samples of apparently healthy ewes to detect subclinically infected cases, while infected ewes had been clinically diagnosed. Bacteriological examination had been carried out on all milk samples. All clinical mastitic milk samples were positive for the bacteriological examination. The isolated bacteria were : *Staph. aureus* (40.49%),coagulase-negative staphylococci(CNS) (23.96%), *Mycoplasma agalactia*(8.26%),*Strep.agalactia*,*Strep.ubres*,*Microccocus spp*.and *Pasteurella multocida* each from (3.31%).*Mannheimia haemolytica*, *Escherichia coli*, *Corynobacterium spp., bacillus spp*. and *Pseudomonas aeruginosa* each from(2.48%) and *Mycoplasma capricolum* (1.65%). 385 out of 565 milk samples from apparently healthy ewes were positive for bacteriological examination with a prevalence rate of 68.14%. The isolated bacteria were coagulase-negative staphylococci (52.28%), *Pseudomonas aeruginosa* (11.18%), *Micrococcus* spp.(11%), *Strep. Ubres* (5.71%), *Strep. Disagalactia* (5.48%), *Strep. agalactia* (4.34%), *Staph. aureus* (3%), *Escherichia coli* (2.74%), *bacillus spp*.(1.59%), *Strep. fecals* (1.37%), *Actinomyces spp*. and *Corynobacterium spp*. both (0.46%) and *Mycoplasma agalactia* and *Mycoplasma capricolum* both (0.23%).
The results of antibiotic sensitivity test reveals that the most effective antibiotics against Gram positive cocci were in a descending order: Tetracycline, trimoxazole, Enrofloxacin, Gentamicin, kanamycin, Lincomycin and Novobiocin. Meanwhile the most effective antibiotics against Gram negative bacteria were in a descending order: Gentamicin, Neomycin, Colistin sulphate, Tetracycline, Enrofloxacin and trimoxazole. While the least effective antibiotics against all bacteria were in a descending order: Penicillin, Ampicillin and Amoxicillin.
This study revealed that the prevalence of clinical mastitis in sheep flocks was 2% , and the prevalence of subclinical mastitis of ewes was 68.14%. The prevalence of contagious mastitis in Hama (1.95%), Homs (2.36%) and in research stations (1%), While the prevalence of contagious mastitis in all flocks was 2% . The prevalence according to productivity age was reported as follows: at ages 4,5 years were 4.9% , 3.33% respectively.
The study showed that the most important risk factors on occurrence of contagious mastitis in sheep were: productive age(OR=1.49) of ewe,

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

regions (OR=2.74) of the flocks, lactation period (upon 30 days after parturient) (OR=2.6) and presence of another disease cases (OR=13.14), which was the most significant factor to rise up the number of mastitis cases in ewes.

Sensitivity and specificity of CMT were 70.51%, 10.51% respectively in comparison with bacteriological examination results for milk samples collected from apparently healthy ewes. This result indicates that CMT could be used to screen mammary states of ewes, although it is not confirmation unless correlated with bacteriological results. There was a significant correlation between isolated bacterial type and scores of CMT.The results of the mentioned study should be interpreted in cautiously exactly with pathogens isolated in this study.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

الفصل التاسع

References المراجع

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

المراجع العربية

1-حاغور، رضوان والياسينو ياسين (1998): دراسة عن انتشار التهابات الضرع في الأغنام في محافظتي حماة وحلب .مجلة جامعة البعث .المجلد العشرون : 185-200.

2-الشريف، لبيب.العاني، فلاح (1998) . "مبادئ علم الأوبئة البيطرية. الطبعة الأولى . جامعة العلوم والتكنولوجيا الأردنية.

3-العمر ياسر،(2005): علم الوبائيات البيطرية.منشورات جامعة البعث –كلية الطب البيطري.

4-المجموعة الإحصائية الزراعية (2007):وزارة الزراعة السورية.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

References

1-Adwan,G.; Abusafieh, D.; Aref, R. and Abo Omar,J.(2005): prevalence1 of microorganisms associated with intrama- mmary infection in cows and small ruminants in the north of Pales -tine. Journal of the Islamic University of Gaza.13(1): 165-173.

2-Aitken, I.D.(2007): Diseases of Sheep, 4th ed. Blackwell Publi- shing .Oxford .UK. pp; 158-160.

3-Akl.K.M.(1988): Subclinical mastitis in buffalos in Behera province. M.V.Sc. Thesis (infectious disease).Fac.Vet.Med.,Alex.Univ.

4-Albenzio M.; Taibi L.; Muscio A.and Sevi A. (2002): Prevalence and etiology of subclinical mastitis in intensively managed flocks and related changes in the yield and quality of ewe milk,Small Rumin. Res. 43:219-226.

5-Alomar, Y. (2000): Epidemiological methods to estimate the impact of production diseases in dairy cattle.Ph.D.Thesis, Reading University, UK.

6-Al-Majali, A.M.and Jawabreh, S.(2003): Period prevalence and etiology of subclinical mastitis in Awassi sheep in southern Jordan. Small Rumin .Res.47(3): 243-248.

7-AL-Momani,W.;Halablab,M.A.; Abo-Shehada,M.N.;Miles,K.; McAuliffe,L.and Nicholas,R.A.J.(2006): isolation and molecular identification of small ruminant mycoplasma in Jordan. Small Rumin.Res.65(1-2):106-112.

8-Al-Zeftawi, N. M. N. (1979): The role of Mycoplasmatales in diseases of sheep and goats in Egypt. PhD. Thesis. University of Cairo, Cairo, 180 p.

9-Ameh J.A.and Tari I.S., (1999): Observations on the prevalence of caprine mastitis in relation to predisposing factors in Maiduguri, Awassi sheep in northern Jordan, Prev. Vet. Med, 33 ;171–181.

10-Antunes, N.T.; Tavío, M.M.; Assunc¸a˜o, P.; Rosales, R.S.; Poveda, C.; de la Fe, C.; Gil, M.C. and Poveda, J.B. (2008): In vitro susceptibilities of field isolates of Mycoplasma agalactiae. The Veterinary Journal 177 : 436–438.

11-Ariznabarreta, A.; Gonzalo C.and San Primitivo F., (2002): Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to Staphylococci, J. Dairy Sci. 85 1370–1375.

12-Arsenault, J.; Dubreuil, P.; Higgins, R.and Be´langer, D.(2008): Risk factors and impacts of clinical and subclinical mastitis in commercial meat-producing sheep flocks in Quebec, Canada. Preventive Veterinary Medicine. (87) ; 373–393.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

13-Baggot, J.D. (1977): Principles of Drug Disposition in Domestic Animals: The Basis of Veterinary Clinical Pharmacology. W.B. Saunders, Philadelphia.

14-Bagherwal, R. K.and Sisodia, R. S. (1991): Long acting oxytetracycline as chemotherapeutic agent against pneumonia in kids due to mycoplasma infection. Indian J. vet. med.. 15 : 140 – 141.

15-Belaid, B.; Le Goff, C.and Lefevre, P. C. (1990): Enquete epidemiologique et serodiagnostic de l'agalactie contagieuse des petits ruminants de l'Est algerien. Rev. Elev. Med.Vet. Pays Trop. 43: 37 – 41.

16-Benkirane, A.and Amghar, S. (1990): Antibiosensibilite in vitro de diverses souches de Mycoplasma capricolum. Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop. 43: 453– 455.

17-Bergdoll, M. S. (1983): Enterotoxins. In C. S. Easmon and C. Adlam. Staphylococci and staphylococcal infections. London: Academic Press Inc., pp. 559–598.

18-Bergonier, D. (1996):
Etude de la variabilite intra-specifique de Mycoplasma agalactiae: bases pour l'amelioration du diagnostic de l'agalactie contagieuse. PhD. Thesis. Universite Claude Bernard, Lyon. 205. p.

19-Bergonier, D. and Berthelot X. (1993): Mammites aspergillaires en élevage ovin laitier, Revue d'épidémio surveillance VEGA(1) 10–11.

20-Bergonier, D.and Berthelot, X.(2003): New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. Livest. Prod. Sci. 79; 1–16.

21-Bergonier, D.; Berthelot, X.and Poumarat, F. (1997):Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 16 (3), 319–328.

22-Bergonier, B. D.; Cremoux, R.; Rupp, R.; Lagriffoul, G. and Berthelot, X.(2003):
Mastitis of dairy small ruminants. Vet. Res. 34:689-716.

23-Bergonier, D.; De Simone, F.; Russo, P.; Solsona, M.and Poumarat, F. (1996) : Variable expression and geographic distribution of Mycoplasma agalactiae surface epitopes demonstrated with monoclonal antibodies. FEMS Microbiol. Letters. 143: 159 – 165

24-Bergonier, D.; Frey, J.; Miserez, R.; Solsona, M.; Nicolet, J.and Poumarat, F. (1996): PCR on 16S rRNA gene, restriction endonuclease analysis and SDS-PAGE patterns of Mycoplasma agalactiae isolates. In: Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics. (J. Frey and K. Sarris, eds.). EUR 16934, COST, European Commission. European Communities Official Publications Office, Luxembourg.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

25-Bergonier, D.; Longo F.; Lagriffoul G.;Consalvi P.J.; Van de Wiele A.and Berthelot X. (1996): Fréquence et persistance des Staphylocoques coagulase négative au tarissement et relations avec les numérations cellulaires chez la brebis laitière, in: Rubino R. (Ed.), Proceedingsof Somatic cells and milk of Small Ruminants, International Sympos- ium, Bella,Italy, Wageningen Pers, The Netherlands, pp.53–59.
26-Bergonier, D.; Solsona, M.; De Simone, F.; Russo, P.and Poumarat, F. (1996) : Study of Mycoplasma agalactiae antigenic variability using monoclonal antibodies. In: Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics. (J. Frey and K. Sarris, eds.). EUR 16934, Cost,European Commission. European Communities Official Publications Office, Luxembourg.
27-Bergonier, D.; Thiaucourt ,F.; L'AgalactieP.C.; Blancou J. and Chermette R.(Coord.).(2003): Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et Régions chaudes,Ed. Tec et Doc, Lavoisier, 1824 p.
28-Berriatua ,E.; Ziluaga, I.; Miguel Virto, C.;Uribarren P.; Juste R.; Laevens S.; Vandamme P. and Govan J.R.W. (2001): Outbreak of subclinical mastitis in a flock of dairy sheep associated with Burkholderia cepacia complex infection,J. Clin. Microbiol. 39: 990–994.
29-Bhaumik, A.; Verma, B. B.; Thakur, D. K.; Pandey, S. N.and Benerjee, N. C. (1990): Effect of oral administration of tylosin tartrate in the treatment of experimental and natural cases of caprine mycoplasmosis. Indian. vet. J. 67: 948 – 951.
30-Bisping. W. and Amtsberg. G. (1988):
colour atlas for diagnosis of bacterial pathogens in animals.Paul Parey Scientific Publishers, Berlin and Hamburg .313-317.
31-Blood,D.C. and Radostits,O.M. (1989):
Veterinary medicine.Text book of diseases of cattle ,sheep,goats and horse.7th Ed.Bailier Tindall Ltd, London.
32-Bocklisch,H. and Wetzstein,D. (1994):
Clinical, diagnostic laboratory and therapeutic studies of mastitis in a large sheep breeding flock]. Tierarztl. Prax. 22, 524-528.
33-Bolske, G.; Wilhemsson, E.; Twinamasiko, E.and Johansson, K.E. (1994) : Detection of Mycoplasma capricolum subsp.capripneumoniae in goats and sheep in Uganda. IOM. Lett. 3: 19-20.
34-Bradley, A .J.(2002): Bovine mastitis: An evolving disease. The Veterinary Journal. 164: 116-128 .
35-Bramley, A.J. and F.H. Dodd. (1984):
Reviews of the progress of dairy science:Mastitis control -prognosis and prospects J.Dairy Res.5:481-512.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

36-Burriel A.R. (1997): Dynamics of intramammary infection in the sheep caused by coagulasenegative staphylococci and its influence on udder tissue and milk composition, Veterinary Record 140: 419-423.

37-Burriel , A .R . (1998): Isolation of coagulase negative staphylococci from the milk and environment of sheep.J .Dairy Res.65, 139–142.

38-Calavas D.; Bugnard, F.; Ducrot C.and Sulpice P. (1998): Classification of the clinical types of udder disease affecting nursing ewes, Small Rumin. changes in the yield and quality of ewe milk, Small Rumin. Res. 43 219–226.Cont. Educ. Pract. 18 ; 582–591.

39-Carter,G.R.(1979):
Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology 3rd by CHARLES Thomas. Publisher Springfield .illinois.USA. 261-264.

40-Cifrian,E.A.J.;Guidry,C.N.O.;Brien,S.C.;Nickerson,and Marquardt,W.W .(1994): Adherence of Staphylococcus aureus to cultured bovine mammary epithelial cells. J. Dairy Sci. 77:970–983.

41-Collee, J. G.;Marmion B.P.;Fraser, A. G and Simmons A. (1996): Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology. 14th ed., Churchill Livingstone, New York, pp 263-98.

42-Contreras, A., J. C. Corrales, A. Sa´nchez, and D. Sierra. (1997): Persistence of caprine intramammary pathogens throughout lactation. J. Dairy Sci. 80:2815–2819.

43-Contreras, A.; Luengo, C.; Sanchez, A.and Corrales, J.C.(2003): The role of intramammary pathogens in dairy goats. Livest. Prod. Sci. 79,273–283.

44-Contreras ,A.; Sanchez,A.and Corrales,J.(2004): Health priorities in dairy goats .In :Daza ,A. ,Fernandez,C.,Sanchez,A.(Eds.),Goat Live stock : Production,Nutrition and Health .Ed. Agricola Espanola,Espana,ISBN84-85441-71-0,pp.229–243(Chapter12).

45-Cottew, G. S. (1985): Infections with Mollicutes in sheep and goats. In: Infektionen durch Mycoplasmates. Gyrlstorff I., ed. VEB Gustaf Fischer Verlag, Jena, Germany, 368 – 386.

46-Crist ,W. L. and Harmon, R. J. (1988): Clinical mastitis incidence-recordin, analysis and reporting results. In proceeding of BCVA,UK.

47-Crist ,W.; Harmon,R.J.;OʾLeary,J. and Mcallister,A.J.(1996): mastitis and its control. University of Kentucky, college of agriculture,USA.

48-Cruickshank ,R.; Dujuid J. P.; Marmoin, B. P. and Swain, R.H. A. (1975) : Medical microbiology 12th ed., Vol.2, Churchill Livingstone, Edimblirgh London and New York.

49-Da massa, A. J.and Brooks, D.L.(1991): The external ear canal of goats and other animals as a Mycoplasma habitat.Small Ruminant Res.4:85-93.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

50-Da massa, A. J.;Brooks, D. L.;Holmberg, C. A.and Moe, A. I. (1987): Caprine mycoplasmosis an outbreakof mastitis and arthritis requiring the destruction 700 goats. Vet. Rec. 120: 409-413.

51-Da massa, A. J.; Wakenell, P. S.and Brooks, D. L. (1992): Mycoplasmas of goats and sheep. J. Vet. Diagn. Invest. 4:101 – 113.

52-Damdinsuren, Ch. (1989): Mycoplasmosis in farm animals in Mongolia: immunization of sheep and goats against contagious agalactia. Arch. Exp. VetMed. 43: 769 – 772.

53-Dario, C.; Laudadio, V.; Corsalini, T.; Bufano, G. and Buonavoglia C. (1996): Subclinical mastitis in sheep: occurrence, etiology and milk production in different genetic types. Agr. Mediterranea (126): 320-325.

54-Dedieu, L.; Mady, V.and Lefevre, P. C. (1995): Development of two PCR assays for the identification of mycoplasmas causing contagious agalactia. FEMS Letters. 129: 243 – 250.

55-De Graves, F.J., and Fetrow, J. (1993) :
Economics of mastitis and mastitis control. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 9: 421- 434.

56-De la Cruz M. ; Serrano E. ; Montoro V.; Marco J.; Romeo M.; Baselga R.;Albizu, I. and Amorena B.(1994):
Etiology and prevalence of subclinical mastitis in the Manchega sheep at mid-late lactation. . Small Rumin .Res 14(2):18-24.

57-Devriese, L. A. H.; Laevens, F.; Haesebrouck, and J. Hommez. (1994): A simple identification scheme for coagulase negative staphylococci from bovine mastitis.Res. Vet. Sci. 57:240–244.

58-Diliello, L. R. (1982): Methods in Food and Dairy Microbiology.AVI Publishing Company, Westport, CT.

59-Dopfer, D.; Barkema, H. W.; Lam, T. J. G. M.; Schukken, Y. H.and Gaastra, W. (1999): Recurrent clinical mastitis caused by Escherichia coli in dairy cows. Journal of Dairy Science 82: 80-85 .

60-Ebrahimi,A.; Lotfalian,Sh.and Karimi,S.(2007):
Drug resistance in isolated bacteria from milk of sheep and goats with subclinical mastitis in Shahrekord district. Iranian.J.Vet. Res,University of Sheraz ,Vol,8,No.1,Ser. No.18.

61-Egwu, G. O.; Ameh, J. A.; Aliu, M. M.and Mohammed, F. D. (1999): Caprine mycoplasmal mastitis in Nigeria Veterinarski Arhiv.69:241- 250.

62-Erdag, O. (1989): Investigations on the preparation and application of vaccine against contagious Mycoplasma agalactiae or sheep and goats in Turkey. Proc. Int. Symp. Mycoplasma. Theiler. 20 - 22

63-Erskine, R.J. (1993): Nutrition and mastitis. Vet. Clinics of North America: Food Ani. Pract. 9:551-561.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

64-Erskine, R.J., R.J.; Eberhart, L.J.; Hutchinson, and S.B. Spencer. (1987): Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in dairy herds with high and low somatic cell counts. J. Am. Vet. Med. Assoc. 190:1417-1421.

65-Esnal, A.; Aduriz, J. J.; Romeo, M.; Juste, R.A.and Contreras, A. (1994): Agalaxia contagiosa: control.Ovis. 30: 35 – 62.

66-Esslemont and Kossaibati(1995):
The dairy information system, report NO.4.University of reading ,Department of food and agriculture,reading,England.

67-Fadda, A.; Cannas, E. A.; Cubeddu, G. M.; De Palmas, S.and Petracca, G. (1995): Susceptibility of Mycoplasma agalactiae to tilmicosin. In Proc. 3rd International Mastitis Seminar. Tel Aviv, 28 May - 1 June. Lachmann Printers, Ltd., Bet Dagan, 126 – 127.

68-Farrell, A. M.; Taylor, D.; and Holland, K. T. (1995): Cloning, nucleotide sequence determination and expression of the Staphylococcus aureus hyaluronate lyase gene. FEMS Microbiol. Lett.130:81–85.

69-Fleury, B.; D. Bergonier, X.; Berthelot, E.; Peterhans,J.; Frey, and Vilei. E. M. (2002): Characterization of P40, a cytadhesin of Mycoplasma agalactiae. Infect. Immun. 70:5612–5621.

70-Forde K.N.; McCluskey B.J. and Morgan K.S.,(2003):An investigation into the Risk Factors Associated with Clinical Mastitis in Colorado Sheep. Sheep & Goat Research Journal.18:86-89.

71-Fox, L.K. and J.M. Gay. (1993): Contagious mastitis. Vet. Clinics of North America: Food Ani. Pract. 9:475-487.

72-Freundt, E. A. (1983): Culture media for classic mycoplasmas. In: Tully, J. G. and Razin, S.: Methods in mycoplasmology, Vol. 2, Academic Press, New York, 127 – 135.

73-Frost, A. I., D. D.; Wanasinghe.and Woolcock, J. B.(1977): Some factors affecting selective adherence of microorganisms in the bovine mammary gland. Infect. Immun. 15:245–253.

74-Fthenakis, G. C.(1993): Prevalence and etiology of subclinical mastitis in ewes of Southern Greece. Small Rumin .Res. 13(3) :293 -300.

75-Fthenakis, G.C. (1994) : Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in ewes of southern Greece, Small Rumin. Res. 13; 293–300.

76-Fthenakis ,G.C and Jones J.E.T. (1990):
The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs. Br Vet J. 146:43–49.

77-Fthenakis, G.C., El-Masannat, E.T.S., Booth, J.M., Jones, J.E.T.(1991):
Somatic cell counts of ewes' milk. Br. Vet. J. 147, 575–581.

78-Fthenakis, G. G.(1998):

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

Susceptibility to antibiotics of staphylococcal isolates from cases of ovine or bovine mastitis in Greece. Small Rumin. Res.28(1): 9-13.

79-Gibson, IR and Hendy, P.G.(1976):
Mastitis in dry ewes. Vet Rec. 98:511–512.

80-Gonzales, R.N.;Cullor, D.E.; Jasper, T.B.; Farver, R.B.; Bushnell, J.S. and Oliver, M.N. (1989): Prevention of clinical coliform mastitis in diary cows by a mutant Escherichia coli vaccine. Can. J. Vet. Res. 53:301-305.

81-Gonzalo, C.; Tardaguila, J.A.; De la Fuente, L.F.and San Primitivo, F. (2004): Effects of selective and complete dry therapy on prevalence of intramammary infection and on milk yield in the subsequent lactation in dairy ewes. J. Dairy Res. 71, 33–38.

82-Gross, S.J.; Pollak, E.J.; Anderson, J.G.and Torell, D.T. (1978):Incidence and importance of subclinical mastitis in sheep. J.Anim. Sci. 46, 1–8.

83-Gross,J.J.;Pollak,E. J.;Anderson, J. G. and Torrel. D. T. (1987): Incidence and importance of subclinical mastitis in sheep. J.Anim.sci.,(46):1-8.

84-Grov, A. (1973): Studies on the interaction between staphylococcal protein A and the Fc region of immunoglobulin G. Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. A. Suppl. 236:77–83.

85-Gutierrez, L.; Gracia Lopez ,M.L.,and Moreno, B.(1980): Anules de la facultad de veterinaria de Leon. (26)125.

86-Gutierrez, L.; Gracia Lopez ,M.L.; Otero, M.C.; Gracia Fernandez and Moreno, B. (1990): Incidence of Staphylococci in ovine mastitis milk and antibiotic susceptibility of the strains.Cited in Biological abstracts. 91(10):Ab.108400.

87-Gyles,C.L.; Prescott,J.F.; Songer,J.G. and Thoen,C.O.(2004): Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals.3rd Blackwell Publishing Professional 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014, USA.

88-Haenlein G.F.W. (2002): Relationship of somatic cell counts in goat milk to mastitis and productivity, Small Rumin. Res, 45 ;163–178.

89-Hariharan,H.; Donachie, W.; Macaldowie, C.and Keefe, G.(2004): Bacteriology and somatic cell counts in milk samples from ewes on a Scottish farm. Can J Vet Res. 68(3): 188–192.

90-Hasso, S. A.; AL-aubaidi, J. M. and AL-darraji, A. M. (1993): Contagious agalactia in goats: its severity as related to the route of infection and pregnancy. Small Ruminants Res. 10: 263 – 275.

91-Hermans,K.P.; DeHerdt,L.A.; Devriese,W.; Hendrickx,G. and Haesebrouck, F. (1999): Colonization of rabbits with Staphylococcus aureus in flocks with and without chronic problems of staphylococcosis.Vet. Microbiol. 67:3746.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

92-Heringstad,B.; Chang,Y.M.; Gianola,D. and Klemetsdal,G. (2005): Genetic association between susceptibility to clinical mastitis and protein yield in norwegian dairy cattle. Journal of Dairy
Science 88, 1509-1514.

93-Ho, G.W. H.; Campbell, M. S.; Bergdoll, and Carlson, E. (1989): Production of a toxic shock syndrome variant by Staphylococcus aureus strains associated with sheep, goats and cows. J. Clin. Microbiol. 27:1946–1948.

94-Hogan, J.S.; K.L. Smith, K.H.; Hoblet, D.A.; Todhunter, P.; Schoenberger, W.D.; Hueston, D.E.; Pritchard, G.L.; Bowman, L.E.; Heider, and B.L. Brockett. (1989): Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairys. J. Dairy Sci. 72:250-258.

95-Hogan, J.S.; K.L. Smith, D.A.; Todhunter, P.S. and Schoenberger. (1992): Field trial to determine efficacy of an Escherichia coli J5 mastitis vaccine. J. Dairy Sci. 75:78-84.

96-Holcombe,D.W. (2005):
Developing Techniques For Detection Of Subclinical "Invisible" Mastitis In Sheep. http://www. ag. unr. edu/cabnr/Impacts/12. htm.

97-Hollingshead, S. K.; Canfield, P. W. and Pritchard, D. G. (1989): Insertional mutagenesis of CAMP factor in group B streptococci. Am. Soc. Microbiol. Annual Mtg. Abstr. B-28.

98-Hosmer,D.W.and Lemeshow,S.(1989):
Applied logistic regression.Published dy John Wiley and son CO.USA.

99-Hueston, W.D.; Hartwig, N.R. and Judy, J.K., (1986): Detection of ovine intramammary infection with the California mastitis test. J. Am. Vet. Med. Assoc. 188, 522–524.

100-Ibrahim,S.K.(1996):
Laboratorydiagnosis of ovine mastitis. M.V.Sc.,thesis(microbiology-diagnostic microbiology) Fac.Vet.Med., Alexandaria University.

101-Indrebø, A.(1991):
Mastitis and teat injuries in the ewe in relation to age, partus and number of lambs (article in Norwegian). Nor Vet Tidsskr.;103:197–204.

102-Iqbal, M. M.; Khan, A. B.; Daraz and Siddique, U. (2004): Bacteriology of mastitis milk and in vitro antibiogram of the isolates. Pakistan Vet. J., 24(4),161-164.

103-Ismail, S. F. (1993): Infectious caprine keratokonjunctivitis. Assiut Vet. Med. J. 28: 264 – 271.

104-Jayarao B. M.; Gillespie B. E.; Lewis M. J.; Dolen H. H.; Oliver S. P. (1999): Streptococcus uberis intramammary and Epidemiology of infections in a dairy herd Zentralbl Veterinarmed B..46(7):433-42.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

105-Jensen,R. and Swift,B.L.(1982): Diseases of sheep. Second Ed.,lea and Febiger, Philadelphia.

106-Jones J.E.T.(1991): Mastitis in sheep. In Breeding for Disease Resistance in Farm Animals. Edited by: Owen JB, Axfor RFE. Bangor: Tucson, AZ, CAB International;412-423.

107-Jones, J.E.T. and Watkins, G.H. (1998): Studies on mastitis in sheep at the Royal Veterinary College. Proceedings of the Sheep Veterinary Jordan. Small Rumin. Res. 47, 243–248.

108-Karmy,S.A.(1990):
Bacteriololgical studies on mastitis in small ruminants and she-camel in Upper Egypt .J.Egypt. Vet.Med.Ass.,50(1):69-79.

109-Keisler,D.H.; Andrews,M.L. and Moffatt,R.J.(1992): Subclinical mastitis in ewes and its effect on lamb performance.J.Anim. Sci.70,1677–1681.

110-Jensen,R. and swift,B.L. (1988): diseases of sheep.2 rd. edit .Lea and Fibger .philadelphia.

111-Kinde H.; Da massa A. J.; Wakenell, P.S.and Petty, R. (1994): Mycoplasma infection in a commercial goat dairy caused by Mycoplasma agalactiae and Mycoplasma mycoides subsp. mycoides (caprine biotype). J. Vet.Diagn. Invest. 6: 423 – 42.

112-Kirk J.H. and Glenn J.S.(1996): Mastitis in ewes, Comp. knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. Rev Sci Tech OIE 16: 848-873.

113-Kirk, J. H.; Glenn, J. S. and J. P. Maas .(1996): Mastitis in flock of milking sheep. Small Rumin .Res.(22): 187-191.

114-Klastrup, O.; Schimidt P. (1974):
Nordic recommendations concerning mastitis control of quarter samples. Nordic Veterinarian-Medicine. 26: 197-204.

115-Konemon, E.W.;Allen, S.D.;Janda, W.M .; Schreckenberger, P.C.and
Winn, W. C. (1997): Color Atlas and and Textbook of Diagnostic Microbiology.,5th ed.Lippincott,Philadelphia,PA. 1395 pp.

116-Kryzanowski, J.; Wawron, W.; Malinowski, V.; Gluszak, J.and Orlik S. (1983): Bacterial flora isolated from the secretion of mastitic udders of ewes and their sensitivity to antibiotics. Med Vet, 39:462-464.

117-Kusiluka, L. J. M.; Ojeniyi, B.; Friis, N. F.; Kazwala, R. R.and Kokotovic, B. (2000): Mycoplasmas isolated from the respiratory tract of cattle and goats in Tanzania. Acta Vet. Scand. 41: 299 – 309.

118-Lafi S.Q.; Al Majali A.M.; Rousan M.D. and Alawneh J.M. (1998): Epidemiological studies of clinical and subclinical ovine mastitis in Awassi sheep in northern Jordan. Prev. Vet. Med. 33: 171–181.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

119-Lambert, M. (1987): Contagious agalactia of sheep and goats. In: Mycoplasmoses of ruminants. Rev. Sci. Tech. OIE. 6: 699 – 711.

120-Lancefield, R. C.; M. McCarty, and W. M. Everly. (1975): Multiple mouse protective antibodies directed against group B streptococci. J. Exp. Med. 142:165–179.

121-Larsgard,A.G.and Vaabenoe,A.(1993): genetic and environmental causes of variation in mastitis in sheep. Small Ruminant research,12(3):339-347.

122-Las Heras A.; Domínguez L. and Fernández-Garayzábal J. F.(1999): Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in dairy ewes of the Madrid region. . Small Rumin .Res. 32(1): 21-29.

123-Las Heras, A.; Dom´ınguez, L.; L´opez, I.and Fern´andez-Garayz´abal, J.F.(1999): Outbreak of acute ovine mastitis associated with Pseudomonas aeruginosa infection. Vet. Rec. 145, 111–112.

124-Leitner, G.; Chaffer, M.;Shamay, A.;Shapiro, F.; Merin,U.;Ezra,E.; Saran, A.and Silanikove, N. (2004): Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep. J. Dairy Sci. 87, 46–52.

125-MacCarthy,F.D.;Lindsey,J.B.;Gore,M.T.andNotter,D.R.(1988): Incidence and control of subclinical mastitis in intensively managed ewes. J.Anim. Sci., 66:2715-2721.

126-Madanat, A.; Zendulkova, D. and Pospisil, Z.(2001): Contagious agalactia of sheep and goats. ACTA VET. BRNO 2001, 70: 403–412.

127-Madel, A. (1983): diseases of sheep . Edited by W.B.Martin London , Blackwell scientific Publications, pp.153-158.

128-Maisi, P.; Junttila, J. and Seppanen, J., (1987): Detection of subclinical mastitis in ewes. Br. Vet. J. 143: 402–409.

129-Maniloff, J. (1992): Phylogeny of mycoplasmas. In Mycoplasmas: molecular biology and pathogenesis.J. Maniloff, R. N. McElhaney, L. R. Finch, and J.B. Baseman (eds.). Washington, DC: American Society for Microbiology, pp. 549–559.

130-Marco, J. C.(1994): Mastitis en la oveja Latxa: epidemiologı´a, diagno´sticoy control. Ph.D. thesis, Univ. Zaragoza, Spain.

131-Martin, W. S.; Meek, H. A.and Wille, P. W (1987): Veterinary epidemiology .First edition. Iowa state University, press, Ames ,Iowa 50014, P:343.

132-Matthews, J. (1999): Diseases of the Goat. 2nd ed. Blackwell, Oxford, UK.

133-Mathur, P.B.; and Dubey, S.C.(1994): Infectious diseases. Sheep and goat diseases. ICAR, New Delhi. Pp. 25.

134-Mc Cullagh,P. and Nelder,J.A.(1983): Generalized Linear models. Chapman Hall, London,UK.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

135-McNeil. (1996): Manual Guide Anolytical soft Ware,USA.

136-Menzies,P.I. (2000): Mastitis of sheep-overview of recent literature. Proceedings of the 6th Great Lakes Dairy Sheep Symposium. , November 2-4, 2000. Guelph 68-76.

137-Menzies, P. I.; and Ramanoon, S. Z. (2001):
Mastitis of sheep and goats. In: R. A. Smith and D. C. Van Metre (Ed.) The Veterinary clinics of North America, Food Animal Practice, Update on Small Ruminant Medicine. 17:333-358. Philadelphia, Pennsylvania: W. B. Saunders Company.

138-Milli, ..H.; Dißi genital sistem. In: HazõroÛlu, R., Milli, ..M., Eds. (2001):
Veteriner Patoloji, II.Cilt. .zkan Matbaacõlõk Ltd. Þti., Ankara
; 455-564.

139-Mørk, T.,Waage, S.; Tollersrud, T.; Kvitle, B. and Sviland, S. (2007): Clinical mastitis in ewes; bacteriology,epidemiology and clinical features. Acta Vet. Scand. 49: 23-28.

140-Moursy, A .W and Zakarya , H. A.(1972): The value of gel tests for detection of subclinical mastitis in Egyption dairy animals.Assiut. Vet. Med.J. Vol. (20):193-204 .

141-National mastitis council .(2005): laboratory hand book on bovine mastitis .University of California press.USA,187-188.

142-Nelson, L., J. I.; Flock, M.; Hook, M.; Lindberg, H. P.; Muller, and Wadstrom, T. (1991):
Adhesins in staphylococcal mastitis as vaccine components. In, C. Burvenich, G. Vandeputte-Van Messom, and A.W. Hill (eds.). New insights into the pathogenesis of mastitis. Gent, Flem. Vet. J., 111–125.

143-Nelson P .W. and Stephen N.C (2003): Wining the fight against mastitis. Westfalia Surge, Inc. USA, pp 1-33.

144-Nicholas, R. (1996): Contagious agalactia: an update. In: Frey, J and Sarris, K: COST 826 Agriculture and Biotechnology, Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics, EUR 16934 Luxembourg, 172pp. 52 – 54.

145-OIE. Manual . (2000): Contagious agalactia. Manual of standards Diagnostic Tests and Vaccines.367-373.

146-Onnasch, H.; Healy, A.M.; Brophy, P.O.;Kinsella, A.and Doherty, M.L. (2002): A study of mastitis in sheep. Res Vet Sci;72:42. doi: 10.1016/S0034-5288(02)90120-7.

147-Pankey, J.W. (1989):
Premilking udder hygiene. J. Dairy Sci. 72:1308-1312.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

148-Pengov, A. and Ceru, S.(2003): Antimicrobial Drug Susceptibility of Staphylococcus aureus Strains Isolated from Bovine and Ovine Mammary Glands.J. Dairy Sci. 86:3157-3163.

149-Perrin, J.; Muller, M.; Zangger, N.and Nicolet, J. (1994): Infection a Mycoplasma mycoides subsp.mycoides LC chez des cabris bezoard (Capra aegagrus cretica) au jardin zoologique de Berne. Schweizer Arch.Tierheilk. 136: 270 – 274.

150-Quinlivan, T.D.(1968): Survey observations on ovine mastitis in New Zealand stud Romney flocks. 2. The bacteriology of ovine mastitis. N Z Vet J, 16:153-160.

151-Quinn, P.J.; Carter, M. E.; Markey, B. K. and Carter, G.R.(1998): Clinical veterinary microbiology. London, Mosby-year book Europe limited pp. 322-324.

152-Quinn, P.J., Carter, M. E., Markey, B. K. and Carter, G.R.(1999): Clinical veterinary microbiology. London, Mosby-year book Europe limited pp. 322-324.

153-Quinn, P.J., Carter, M. E., Markey, B. K. and Carter, G.R. (2000): Clinical veterinary microbiology. London, Mosby-year book Europe limited، pp. 120-121.

154-Radostits, O. M. (2001): Herd Health: Food Animal Production Medicine, 3rd edition. Philadelphia, W. B. Saunders. Blowey, R. and P. Edmondson. 2000. Mastitis control in dairy herds, Farming press books,Ipswich,UK.

155-Radostits. O.M.; Gay. C. C.; Blood, D.C.and Hinchcliff. K. W. (2000): Veterinary Medicine; A Textbook of Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. 9th Edition. pp. 603-660. W. B. Saunders.London.

156-Radostits, O.M.; Leslie, K.E. and Fetrow, J. (1994): Herd Health: Food Animal Production Medicine, Second Edition. W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA. pp. 229-276.

157-Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J .M.and Moore, P. K. (2003): Pharmacology 5th ed, Chrchill livingstone London pp 620-631. Rapid and specific detection of Mycoplasma agalactiae by polymerase chain reaction. Vet. Microbiol. 51: 77 –84.

158-Real, F.; Deniz, S.; Acosta, B.; Ferrer, O.and Poveda, J. B. (1994): Caprine contagious agalactia caused by Mycoplasma agalactiae in the Canary Islands. Vet. Rec. 135: 15 – 16.

159-Rezk.M.S.Y.(1981): Investigation on mastitis in goats and sheep.M.V.Sc.,thesis(Microbiology) Fac.Vet.Med.,Cairo University.

160-Roy, J. P.; Du Tremblay,D.; DesCoˆteaux,L.; Messier, S.; Scholl,D.and Bouchard, E´.(2009): Evaluation of the California Mastitis

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

Test as a precalving treatment selection tool for Holstein heifers. Veterinary Microbiology.134: 136–142.

161-Ryan. K. J. and C. G. Ray. (2004): Sherris Medical Microbiology, 4 ed., Mc Graw Hill. ISBN 0838585299.

162-Sanchez, A.; Contreras, A.; Jimenez, J.; Luengo, C.; Corrales, J.C. and Fern ´andez, C. (2003):
Effect of freezing goat milk samples on recovery of intramammary bacterial pathogens. Vet. Microbiol. 94, 71–77.

163-Sarris, K.;Frey, J. and Sarris, K.(1996): Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics, Cost 826, EUR 16934, European Commission, European Communities Official Publications Office, Luxembourg.; pp. 12 -15.

164-Sarris, K. (1996): Contagious agalactia. In: Frey, J. and Sarris, K.: Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics. EUR 16934, COST, European Commission,European Communities Official Publications Office, Luxembourg, 12 –15.

165-Schoder,G.; Baumgartner,W.and Perthaner,A.(1993): Variation of somatic cell counts in sheep and goat milk during the lactation period. In Proceedings of the 5th international symposium on machin milking of small ruminants, Budapes, Hungry. Cited in Vet. Bulletin, 64(3):Abs.No.1452,p.250.

166-Schultze,W.D. (1985): Development in the identification of diseased udder quarters or cows. Proceedings International Dairy Federation Seminar Progress in the Control of Bovine Mastitis. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte,

167-Scott M.J., Jones J.E. (1998): The carriage of Pasteurella haemolytica in sheep and its transfer between ewes and in relation to mastitis, Journal of Comparative Pathology118: 359-363.

168-Scott P.R.and Murphy S. (1997):
Outbreak of staphylococcal dermatitis in housed lactating Suffolk ewes,Veterinary Record140:631-632.

169-Sevi, A.; Massa, S. and Annicchiarico, G. (1999): Effect of stocking density on ewes' milk yield, udder health and microenvironment. Journal of Dairy Research, 66, 489–499.

170-Sevi A.; Taibi L.; Albenzio M.; Annicchiarico G. and Muscio A. (2001): Airspace effects on the yield and quality of ewe milk, J. Dairy Res, 84,2632–2640.

171-Shawkat, Q .; Lafi and Nabil Q-Hialat.(1998):
Bovine and ovine mastitis in Duleil valley of Jordan . Veterinarski Arhiv Vol (68)NO(2); 51-57.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

172-Shitandi,A. and Kihumbu,G.(2004): Assessment of the California mastitis test usage in smallholder dairy herds and risk of violative antimicrobial residues. J. Vet. Sci., 5(1), 5–9.

173-Shoman,M.T.(1986): Contamination of ewes ś milk with faecal bacteria as cause of ovine mastitis. Assuit Vet. Med. J.,16(31): 305-313.

174-Smith, K.L. (1983):
Mastitis control: a discussion. J. Dairy Sci. 66:1790-1796.

175-Simko,S.and Bartko,P.(1996):
Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus mastitis in sheep,sheep milk and itsproducts.Vet.Med(praha),41(8):241-244.

176-Soell, M.; M. Diab, A.; G. Haan, A.; Beretz, C.; Herbelin, B. Poutrel, and J. P. Klein. (1995): Capsular polysaccharide types 5 and 8 of Staphylococcus aureus bind specifically to human epithelial (KB) cells, endothelial cells, and monocytes and induce release of cytokines. Infect. Immun.63:1380–1386.

177-ŠpÁnik, J.;ČapistrÁk, A.; MargetÍnovÁ, J. and Apolen, D. (2004): Comparison of results from Mastitis NK test, Somatic test, EimÜ test and Labu test to determine probable somatic cell count in sheep milk. In: Journal of Farm Animal Science (Vedecké práce VÚŽV Nitra), vol, 37; 229-235.

178-Statistica (2008): Analytical software,USA.

179-Stefanakis, A.; Boscos, C.; Alexopoulos, C. and Samartzi, F. (1995): Frequency of subclinical mastitis and observations on somatic cell counts in ewes’ milk in northern Greece. Anim. Sci. 61, 69–76.

180-Stefano, A.; Lollai.; Ziccheddu, M.; Di Mauro, C.; Manunta, D.; Nudda, A.and Leori , G.(2008): Profile and evolution of antimicrobial resistance of ovine mastitis pathogens (1995–2004). Small Ruminant Research. 74, 249–254.

181-Stipkovits, L.; Varga, Z.; Laber, G. and Bockmann, J. (1984):
A comparison of the effect of tiamulin hydrogen fumarate and tylosin tartrate on mycoplasma of ruminants and some animal ureaplasmas. Vet. Microbiol. 9: 147 – 153.

182-Tola, S.; AgioIi, A.; Rocchigiani, A. M.; Idini, G.; Manunta, D.; Galleri, G. and Leori, G. (1997):
Detection of Mycoplasma agalactiae in sheep milk samples by polymerase chain reaction. Vet. Microbiol. 54:17-22.

183-Tola, S.; Idini, G.; Manunta, D.; Casciano, I. G.; Rocchigiani, A.M.; Angioi, A. and Leori, G.(1996a): Comparison of Mycoplasma agalactiae isolates by pulsed field gel electrophoresis, SDS – PAGE and

184-Tola, S.; Idini, G.; Manunta, D.; Galleri, G.; Angioi, A.; Rocchigiani, A. M. and Leori, G. (1996 b):

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

Rapid and specific detection of Mycoplasma agalactiae by polymerase chain reaction. Vet. Microbiol. 51: 77 –84

185-Tsaknakis, I.; Kontos, P.; Mpouptze, E.; Mega, A. and Sarris, K. (1992): Epidemiological studies on contagious agalactia in sheep and goats in Chalkidiki, northern Greece. Bull. Hellenic vet. med. Soc. 43: 250 –254

186-Vautor, E.; Abadie, G.; Guibert, JM.; Huard, C. and Pepin, M.(2003): Genotyping of Staphylococcus aureus isolated from various sites on farms with dairy sheep using pulsed-field gel electrophoresis. Vet Microbiol. 96: 69–79. doi: 10.1016/S0378-1135(03)00207-4.

187-Waage, S. and Vatn, S. (2008): Individual animal risk factors for clinical mastitis in meat sheep in Norway. Preventive Veterinary Medicine 87;229–243.

188-Wanasinghe, D. D. (1981): In vitro adherence of Staphylococcus aureus to bovine mammary gland epithelial cells. Acta Vet. Scand. 22:99–108.

189-Watkins, G.H.; Burriel AR. and Jones JE .(1991): A field investigation of subclinical mastitis in sheep in southern England Br vet.147(5):413-420.

190-Watson, D.L.; Franklin N.A.; Davies H.I.; Kettlewell, P. and Frost A.J. (1990): Survey of intramammary infections in ewes on the New England Tableland of New South Wales. Aust Vet J; 67: 6-8.

191-Whithear, K. G. K.; Soeripto, E.; Harrigan, and Ghiocas, E. (1990): Immunogenicity of a temperature sensitive mutant Mycoplasma gallisepticum vaccine. Aust. Vet. J. 67:168–174.

192-Ziluga , I.; Romeo , M. and Marco , J. (1998): Prevalencia ,patogenicidad y epidemiologia de los microorganismos implicados en Procesos mamiticos del Ganado ovino .Ovis 59,27–49.

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit

Syrian Arab Republic
AL-Baath University
Faculty of Veterinary Medicine
Department Of Microbiology



Epidemiological investigation of contagious mastitis caused by Mycoplasma and others in sheep flocks in middle region

A Thesis

presented by

Hamid Ali Nagi ALrefaie
Post-Dipl. Vet. Med. (D.V.M)

for

The Degree of Master in Veterinary Sciences (microbiology)

Under the Supervision of

Dr. Samer Kamel Ibrahim
Assistant Professor of Diagnostic microbiology
Head of Department Of Microbiology
Faculty of Veterinary Medicine
AL-Baath University

2010

All Rights Reserved - Library of University of Jordan - Center of Thesis Deposit